



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO PLASMA RICO EM FACTORES DE CRESCIMENTO NA
REGENERAÇÃO DOS TECIDOS PÓS-EXTRACÇÃO EM TERCEIROS MOLARES
INCLUSOS**

Trabalho submetido por
Bárbara Duarte Silva Lafaia de Castro
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2015



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO PLASMA RICO EM FACTORES DE CRESCIMENTO NA REGENERAÇÃO DOS TECIDOS PÓS-EXTRACÇÃO EM TERCEIROS MOLARES INCLUSOS

Trabalho submetido por
Bárbara Duarte Silva Lafaia de Castro
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor José Silva Marques

outubro de 2015

Sucesso

“Rir muito e com frequência; ganhar o respeito de pessoas inteligentes e o afecto das crianças; merecer a consideração de críticos honestos e suportar a traição de falsos amigos; apreciar a beleza, encontrar o melhor nos outros; deixar o mundo um pouco melhor, seja por uma criança saudável, um canteiro de jardim ou uma condição social redimida; saber que ao menos uma vida respirou melhor porque vivemos.

Isto é ter tido sucesso.”

Ralph Waldo Emerson

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Doutor José Silva Marques, por toda a sua disponibilidade, ajuda e orientação na concretização deste trabalho.

Ao ISCSEM e à Cooperativa Egas Moniz, CRL pela formação sublime prestada aos seus alunos.

À DIRECÇÃO CLÍNICA PELA CONFIANÇA E AUTORIZAÇÃO À REALIZAÇÃO DESTE ESTUDO.

AOS MEUS PAIS PELA PESSOA QUE SOU E POR TODO O APOIO INCONDICIONAL SEM O QUAL TERIA SIDO IMPOSSÍVEL CHEGAR AQUI.

ÀS MINHAS IRMÃS PELA PACIÊNCIA, AJUDA E MOMENTOS DE PURA ALEGRIA SEM AS QUAIS A MINHA VIDA NÃO ESTARIA COMPLETA.

AOS MEUS AVÓS POR TODO O CARINHO.

AO MEU TIO PELA SUA INESTIMÁVEL AJUDA E SABEDORIA.

À MARGARIDA UMA VERDADEIRA AMIGA SEM A QUAL ESTE TRABALHO NÃO TERIA SIDO POSSÍVEL.

AOS MEUS AMIGOS PELOS BONS MOMENTOS E POR NUNCA ME FALTAREM.

AOS MEUS COLEGAS E PROFESSORES QUE ME ENRIQUECERAM E ME ACOMPANHARAM NESTA JORNADA.

RESUMO

Introdução: A extração de terceiros molares inclusos é um procedimento recorrente no âmbito da cirurgia oral e maxilofacial responsável por diversos sintomas e complicações pós-operatórias, provocando uma alteração temporária na qualidade de vida dos pacientes. É com o intuito de reduzir estas alterações e melhorar a sua qualidade de vida pós-operatória que os investigadores têm vindo a desenvolver terapias como as preparações ricas em plaquetas.

OBJECTIVO: Pretende-se analisar e obter o informação própria e relevante sobre a eficácia do plasma rico em factores de crescimento nos tecidos pós extração em terceiros molares inclusos, determinando os seus benefícios para a saúde dos pacientes.

MATERIAIS E MÉTODOS: Na elaboração desta investigação foram consideradas cirurgias de extração de terceiros molares inclusos nas duas arcadas de 20 pacientes. Deste modo o controlo foi proporcionado por uma cirurgia e outra determinou o grupo de estudo, onde foi observada a eficácia da regeneração tecidual promovida pelo PRGF. Foram analisadas as variáveis: dor, edema facial, volume alveolar residual e HI (*Healing Index*). A dor foi avaliada com base numa escala analógica visual de 0 a 10, o edema facial foi registado por cada paciente resultando em 4 medidas chave, o volume alveolar residual foi calculado com base nas medidas vestibulo-lingual, mesio-distal e profundidade de sondagem e o HI resultando numa escala de 4 a 12, sendo 4 uma excelente regeneração e 12 uma pobre regeneração.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: O PRGF demonstrou resultados promissores em todas as variáveis analisadas nesta investigação, demonstrando um valor em média inferior de dor, edema facial, volume alveolar residual e de HI no grupo PRGF comparativamente ao grupo Controlo. Estes resultados atestam as capacidades regenerativas do PRGF descritas na literatura, indicando esta terapia como possível modo de melhorar os índices de morbilidade pós operatória dos pacientes após a extração de terceiros molares inclusos.

PALAVRAS-CHAVE: PRGF, REGENERAÇÃO, FACTORES DE CRESCIMENTO, TERCEIRO MOLAR INCLUSO.

ABSTRACT

Introduction: The extraction of third molars is a frequent procedure in oral and maxillofacial surgery responsible for many symptoms and postoperative complications, causing a temporary change in the patients quality of life. It is in order to reduce these complications and improve the postoperative quality of life that researchers have developed therapies such as platelets rich preparations.

Objective: The aim of this study is to examine and get as much information on the effectiveness of plasma rich in growth factors in post extraction tissues in third molars sockets, determining its benefits to the patients health.

MATERIALS AND METHODS: In this research were considered the extraction surgery of impacted third molars in both arches of 20 patients. Thus the control was provided by a surgery and the other determined the study group, where the effectiveness of tissue regeneration promoted by PRGF was observed, resulting in a total of 40 surgeries. The variables analyzed were: pain, facial edema, residual alveolar volume and HI (Healing Index). The pain was evaluated based on a visual analogical scale of 0 to 10, facial edema was reported by each patient resulting in four key measures, the residual alveolar volume was calculated based on the buccolingual measures, mesiodistal and probing depth and HI resulting in a range of 4 to 12; 4 as excellent regeneration and 12 as poor regeneration.

Results And Conclusions: The PRGF has shown promising results in all variables in this study, demonstrating a averaged less value in pain, facial edema, residual alveolar volume and HI in THE PRGF group compared to the control group. These results attest to the regenerative capacities of the PRGF described in the literature, indicating this therapy as a possible way to improve the postoperative morbidity rates of patients after the extraction of third molars.

Keywords: PRGF, regeneration, growth factors, impacted third molar.

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	23
2. PLAQUETAS E FACTORES DE CRESCIMENTO.....	26
3. FACTORES DE CRESCIMENTO E OUTRAS MOLÉCULAS PRESENTES NO PRGF	32
4. PLASMA RICO EM PLAQUETAS (P.R.P.).....	36
4.1 PLASMA RICO EM PLAQUETAS PURO OU P-PRP (PURE PLATELET-RICH PLASMA)	37
4.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS OU L-PRP (LEUKOCYTE-AND PLATELET-RICH PLASMA)	38
4.3 FIBRINA RICA EM PLAQUETAS PURA OU P-PRF (PURE PLATELET-RICH FIBRIN)	38
4.4 FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LUCÓCITOS OU L-PRF (LEUKOCYTE AND PLATELET-RICH FIBRIN).....	39
5. O PRP E A EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES INCLUSOS.....	40
6. O PRP E A MEDICINA ORAL	43
6.1 O PRP NA PERIODONTOLOGIA	43
6.2 O PRP NA ENDODONTIA	43
6.3 O PRP E A ESTOMATITE AFTOSA RECORRENTE	44
6.4 O PRP E A OSTEONECROSE DOS MAXILARES ASSOCIADA AO USO DE MEDICAMENTOS	44
7. O PRP E A MEDICINA EM GERAL.....	46
II. MATERIAIS E MÉTODOS	47
III. RESULTADOS	55
1.DOR PÓS-OPERATÓRIA	55
2.EDEMA PÓS-OPERATÓRIO	61
2.1 EDEMA PÓS-OPERATÓRIO F1.....	61
2.2 EDEMA PÓS OPERATÓRIO F2.....	65
2.3 EDEMA PÓS OPERATÓRIO F3	69
2.4 EDEMA PÓS OPERATÓRIO F4.....	73
3.VOLUME ALVEOLAR RESIDUAL.....	77
4.HEALING INDEX.....	79
5.ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	80

IV. Discussão.....	83
1.DOR PÓS-OPERATÓRIA	84
2.EDEMA PÓS-OPERATÓRIO	85
3.VOLUME ALVEOLAR RESIDUAL E HI.....	88
4. LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	89
5.PERSPECTIVAS FUTURAS.....	90
V. Conclusão	91
VI. Bibliografia.....	93
VII. Anexos	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo molecular e celular de regeneração normal da derme.	24
Figura 2 – Cascata de coagulação.	27
Figura 3 – Mecanismo de acção dos factores de crescimento. O factor de crescimento (GF) liga-se ao respectivo receptor transmembranário e activa a via de sinalização, que por sua vez irá activar as moléculas de sinalização. Estas moléculas podem produzir novas proteínas, activando o factor de transcrição ou activar directamente proteínas, desencadeando uma resposta celular, como por exemplo crescimento, diferenciação, migração, etc. P = fosforolização	29
Figura 4 – Esquema com as possíveis respostas celulares dos mamíferos à restrição de factores de crescimento.	31
Figura 5 – Esquema ilustrativo sobre a técnica do PRGF	46
Figura 6 – Recolha de sangue (i.)	48
Figura 7 – Colocação de amostra do tubo de citrato de sódio a 3,8% (i.)	48
Figura 8 - Centrifugação da amostra (ii.)	48
Figura 9 – Fragmentação do plasma segundo os diferentes gradientes de densidade (iii.)	48
Figura 10 – Pipetagem das diferentes fracções de plasma (iv.).....	49
Figura 11 – Colocação das diferentes fracções de plasma nos respectivos tubos (iv.) ..	49
Figura 12 – Activação das plaquetas com cloreto de cálcio (vi.)	49
Figura 13 – Obtenção do coágulo após cerca de 15 minutos (vii.)	49
Figura 14 – Classificação de Pell & Gregory (v.)	51
Figura 15 – Medidas faciais F1, F2, F3 e F4, determinadas pela distância entre o ângulo goníaco e 4 pontos faciais (vi., xiv., xv.).....	51
Figura 16 – Escala visual analógica para avaliação de dor (xiv.).....	51
Figura 17 – Aplicação do coagulo PRGF (xi.)	52
Figura 18 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	57
Figura 19– Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	57
Figura 20 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	58
Figura 21 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	58
Figura 22 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	59
Figura 23 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	59

Figura 24 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	60
Figura 25 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	60
Figura 26 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.	62
Figura 27 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	63
Figura 28 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	63
Figura 29 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	64
Figura 30 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	64
Figura 31 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	65
Figura 32 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	66
Figura 33 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	67
Figura 34 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	67
Figura 35 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	68
Figura 36 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	68
Figura 37 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	69
Figura 38 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	70
Figura 39 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	71
Figura 40 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	71
Figura 41 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	72
Figura 42 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	72
Figura 43 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	73
Figura 44 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	74
Figura 45 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	75
Figura 46 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	75
Figura 47 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	76
Figura 48 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	76
Figura 49 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.	77
Figura 50 - Gráfico comparativo de volume alveolar residual.	78
Figura 51- Gráfico comparativo de volume alveolar residual.	78
Figura 52 - Gráfico comparativo de valor de HI.	79
Figura 53 - Gráfico comparativo de valor de HI.	80
Figura 54 - Comparação entre os resultados relativos à dor sentida pelos pacientes com base na escala VAS após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati <i>et al.</i> , 2010)	84

Figura 55 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati <i>et al.</i> , 2010).....	86
Figura 56 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati <i>et al.</i> , 2010).....	86
Figura 57 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati <i>et al.</i> , 2010).....	87
Figura 58 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati <i>et al.</i> , 2010).....	87

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Principais componentes do processo de coagulação, a sua activação e função.	27
Tabela 2 – Diferentes concentrações de leucócitos, plaquetas e alguns factores de crescimento presentes no plasma e PRGF. Ng/ml – nanograma por mililitro, pg/ml – picograma por mililitro, µg/ml – micrograma por mililitro.	38
Tabela 3 – Resumo do resultado geral de diversos estudos onde foi empregue o uso de PRP em cirurgias de tecidos moles e duros.	39
Tabela 4 - resumo do resultado geral de artigos de autores que utilizaram a técnica do PRP em extrações dentárias. (Albanese <i>et al.</i> , 2013)	41
Tabela 5 - Resumo do resultado geral de diversos artigos de autores que utilizaram a técnica do PRP em cirurgias periodontais	42
Tabela 6 - Resumo do resultado geral de artigos que demonstram a eficácia do PRP utilizado em pacientes com Osteonecrose dos maxilares associada ao uso de bifosfonatos.	45
Tabela 7 – Resultados segundo o teste t-student para as variáveis volume alveolar residual, dor máxima e edema máximo F1, F2, F3 e F4.	81
Tabela 8 – Resultados segundo o teste Mann-Whitney para a variável HI.	81

LISTAGEM DE ABREVIATURAS

AAS – AMINOÁCIDOS.

ADP – DIFOSFATO DE ADENOSINA

ANG2 – ANGIOPOEITINA-2

ATP – TRIFOSFATO DE ADENOSINA

B-FGF – FACTOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO BÁSICO (BASIC FIBROBLASTIC GROWTH FACTOR).

CM – CENTIMETRO

EGF – FACTOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO (EPIDERMAL GROWTH FACTOR).

EGFR – RECEPTOR DO FACTOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO

FGFRI – RECEPTORES I DO FACTOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO

FGFRII – RECEPTORES II DO FACTOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO

FGFRIII – RECEPTORES III DO FACTOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO

FGFRIV – RECEPTORES IV DO FACTOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO

GF – FACTOR DE CRESCIMENTO

HGF – FACTOR DE CRESCIMENTO HUMANO

IGFBP – COMPLEXO FORMADO PELO FACTOR DE CRESCIMENTO INSULÍNICO E PROTEÍNAS DE LIGAÇÃO (INSULIN LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN)

IGF-I – FACTOR DE CRESCIMENTO INSULÍNICO TIPO I (INSULIN LIKE GROWTH FACTOR TYPE I).

IGF-IR – RECEPTOR DO FACTOR DE CRESCIMENTO INSULÍNICO TIPO I

ISCSEM – INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS EGAS MONIZ

LAP – LATENCY ASSOCIATED PEPTIDE

L-PRF – FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS OU (LEUKOCYTE AND PLATELET-RICH FIBRIN)

L-PRP – PLASMA RICO EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (LEUKOCYTE-AND PLATELET-RICH PLASMA)

LTBP – LATENT TGF-B BINDING PROTEIN

MG/ML – MICROGRAMA POR MILILITRO

MD – MESIO-DISTAL

NG/ML – NANOGRAMA POR MILILITRO

OMAB – OSTEONECROSE DOS MAXILARES ASSOCIADA AO USO DE BIFOSFONATOS

PA – PROFUNDIDADE DO ALVÉOLO

PDGF – FACTOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DAS PLAQUETAS (PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR).

PDWHF – PLATELET-DERIVED WOUND HEALING FACTORS

PF4 – FACTOR PLAQUETÁRIO 4

PGF – PLASMA COM ALGUNS FACTORES DE CRESCIMENTOS

PG/ML – PICOGRAMA POR MILILITRO,

(PI3K)-AKT – FOSFOINUSITOL 3-QUINASE

PPGF – PLASMA POBRE EM FACTORES DE CRESCIMENTO

P-PRF – FIBRINA RICA EM PLAQUETAS PURA OU (PURE PLATELET-RICH FIBRIN)

P-PRP – PLASMA RICO EM PLAQUETAS PURO (PURE PLATELET-RICH PLASMA)

PRF – PLATELET-RICH FIBRIN

PRFM – *Platelet Rich Fibrin Matrix*

PRGF – PLASMA RICO EM FACTORES DE CRESCIMENTO

PRP – PLASMA RICO EM PLAQUETAS

RPM – ROTAÇÕES POR MINUTO

TC – TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

TGFR1 - RECEPTOR I DO FACTOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADO TIPO BETA

TGFR2 - RECEPTOR II DO FACTOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADO TIPO BETA

TGF- β – FACTOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADO TIPO BETA (BETA TRANSFORMING GROWTH FACTOR).

TGFB1 - FACTOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADO TIPO B

VAS – ESCALA VISUAL ANALÓGICA

VEGF – FACTOR DE CRESCIMENTO VASCULAR ENDOTELIAL (VASCULAR ENDOTELIAL GROWTH FACTOR).

VEGFR1 – RECEPTOR I DO FACTOR DE CRESCIMENTO VASCULAR ENDOTELIAL

VEGFR2 - RECEPTOR II DO FACTOR DE CRESCIMENTO VASCULAR ENDOTELIAL

VL – VESTÍBULO-LINGUAL

μm – MICRÓMETRO

I. INTRODUÇÃO

Pretende-se com este trabalho de investigação analisar e discernir o máximo de informação, o mais actualizada possível, sobre a temática em questão: avaliação da eficácia do plasma rico em factores de crescimento na regeneração dos tecidos moles pós-extração em terceiros molares inclusos, determinando os seus benefícios para a saúde dos pacientes.

O plasma rico em factores de crescimento (PRGF) é uma técnica de PRPs (plasma rico em plaquetas) que procura estimular a regeneração tecidular através da aplicação de um gel de plaquetas rico em factores de crescimento. Este gel é obtido através de um protocolo de centrifugação a partir do sangue do próprio paciente, tratando-se deste modo de um tecido biocompatível com diversas aplicabilidades terapêuticas, entre as quais na cirurgia oral e maxilofacial, sendo um dos pilares estratégicos da nova medicina regenerativa.

Esta investigação é enquadrada pela informação indexada publicada sobre regeneração tecidular, o papel das plaquetas e dos factores de crescimento, a definição de PRPs e quais as suas características salientando dentre estes o PRGF e os seus benefícios na extração de terceiros molares inclusos.

A vertente prática desta investigação incide na determinação da capacidade regenerativa, referida por diversos autores, do PRGF nos tecidos moles pós-extração de terceiros molares inclusos, aferindo para este efeito a maturação e qualidade da regeneração dos tecidos através do volume residual do alvéolo, da sua coloração, consistência, ausência ou presença de supuração e/ou sangramento da mucosa, o edema facial e a percepção de dor no pós-operatório de 40 cirurgias em 20 pacientes.

1. REPARAÇÃO VERSUS REGENERAÇÃO

No organismo do ser humano existem dois mecanismos distintos de recuperação tecidual: a reparação e a regeneração. Segundo Eming, Martin, & Tomic-Canic, (2014) a reparação consiste na recuperação do tecido sem que este restabeleça a sua arquitectura original, tendo como consequência a limitação ou perda das suas propriedades físicas e mecânicas levando à redução da sua função. Este processo ocorre naturalmente e resulta na cicatrização. A regeneração acontece quando o tecido restabelece as suas propriedades tornando-se indistinguível do tecido original.

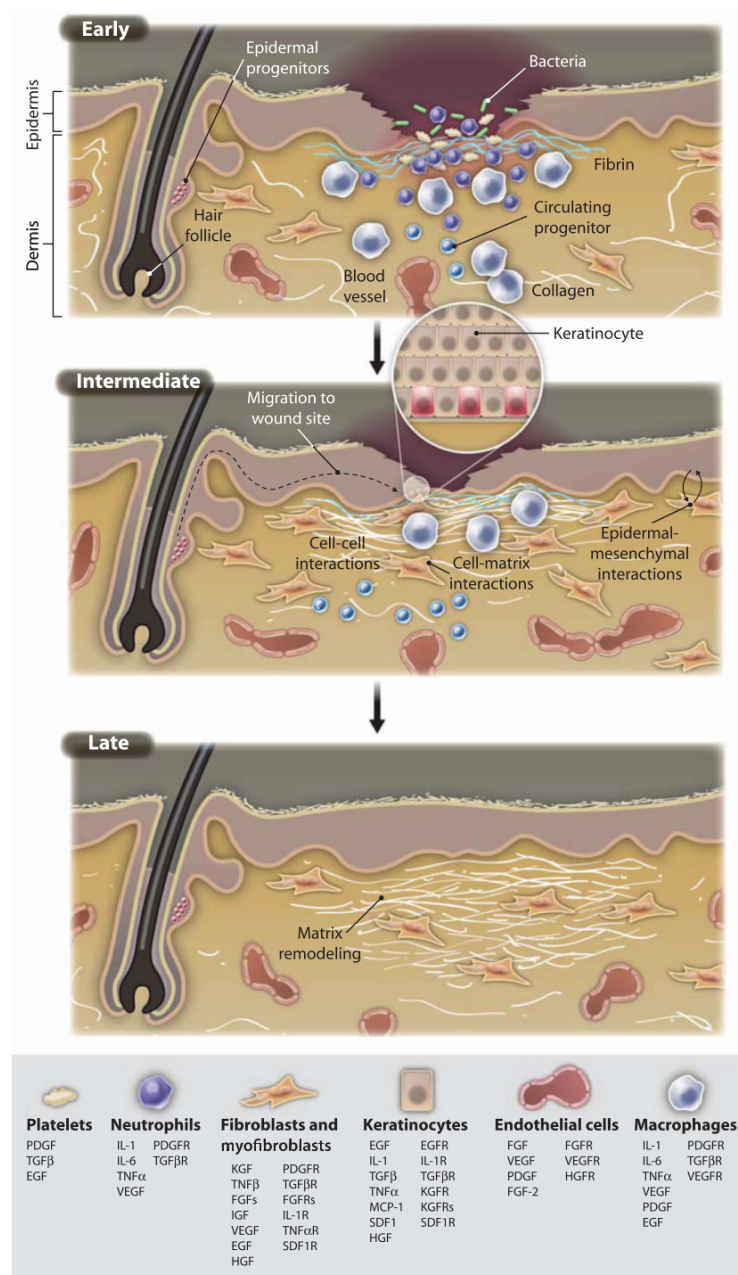


Figura 1 – Mecanismo molecular e celular de regeneração normal da derme. (Eming *et al.*, 2014)

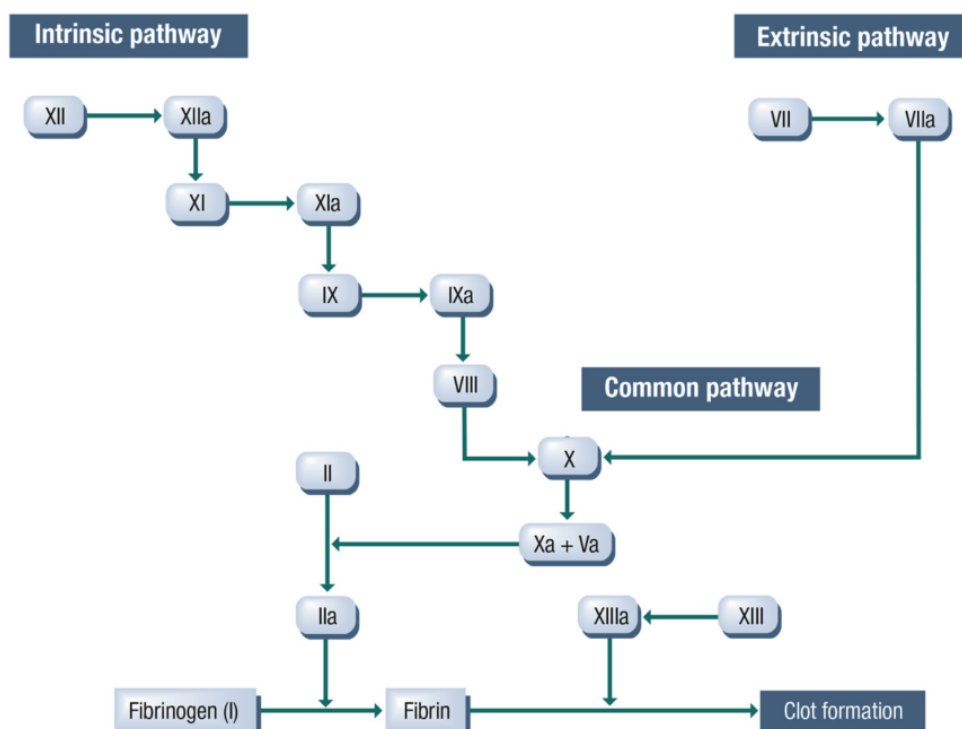
Hoje em dia com os diversos avanços na engenharia tecidual baseada na biologia celular, molecular, química de polímeros, cirurgia e fisiologia procura-se recuperar a forma e função fisiológica dos tecidos lesados – regenerá-los, em detrimento da sua cicatrização – reparação. Deste modo torna-se vital para a biologia regenerativa reconhecer as diferenças celulares e moleculares entre a reparação e a regeneração. Para que um tecido regenere é fundamental a presença dos sinais estimuladores que desencadeiam e regulam todo este processo – factores de crescimentos e proteínas morfogénicas, uma vez que as células necessárias por si só não são capazes de promover a regeneração mas sim a reparação. Outro dos requisitos para que ocorra uma completa recuperação da histoeestrutura (regeneração) é a capacidade de divisão celular. Podemos classificar as células como lábeis (epitélio seminífero e órgãos hematopoéticos), estáveis (hematócitos e fibroblastos) ou permanentes. Grande parte dos tecidos apresenta uma cinética de renovação bastante lenta, como as células do fígado e as células endoteliais dos vasos sanguíneos. No entanto quando ocorre uma lesão destes tecidos é formado um estímulo que irá desencadear um aumento do seu *turn over* celular. Uma célula ao ser danificada conduz a uma interrupção na interação entre os diversos componentes da mesma, como a organização da sua estrutura macromolecular do espaço extracelular (matriz intracelular, matriz minor e estruturas de contacto célula-célula) provocando a sua morte celular, dando origem em resposta um processo inflamatório. Deste modo, para que um defeito tecidual consiga regenerar recuperando a sua arquitectura original e evitar a formação de tecido cicatricial (fibroso), é indispensável a remoção do material celular necrótico, o controlo da inflamação, proliferação e diferenciação celular. (Eming *et al.*, 2014; Martín, Vallejo, Iglesias, & Gómez, 2012; Yamskova, Krasnov, & Yamskov, 2010)

2. PLAQUETAS E FACTORES DE CRESCIMENTO

As plaquetas são células anucleadas de pequeno diâmetro, cerca de 1 a 3 μm , possuem uma forma discóide singular e desempenham um papel fundamental na hemostase, regeneração tecidual, angiogénese, inflamação e imunidade inata. As suas células precursoras são os megacariócitos que se encontram na medula óssea, estes por sua vez dão origem às pró-plaquetas a partir de um processo de maturação do seu citoplasma culminando na formação das plaquetas. Este processo requer a presença da hormona trombopoietina e de factores de crescimento específicos para os megacariócitos, requerendo usualmente cerca de 5 dias desde o início deste processo até ao seu término no ser humano. As plaquetas após serem libertadas para a circulação possuem um tempo de vida de cerca de 7 a 10 dias. (Machlus & Italiano, 2013; Risitano, Beaulieu, Vitseva, & Freedman, 2012)

Para que ocorra a formação de um coágulo é necessário a interação das plaquetas, fibrina activada e outros co-factores como os factores de crescimento. Estes estão armazenados nos grânulos α das plaquetas e são libertados após um estímulo específico, procurando em conjunto com as proteínas plasmáticas mediar a adesão e recrutamento das plaquetas e assim promover a formação de um coágulo. (Durante *et al.*, 2013)

O objectivo final da coagulação é a formação de fibrina, este processo é designado como cascata de coagulação (figura 2) e possui dois mecanismos distintos: a via extrínseca e intrínseca. Ambas as vias envolvem uma série de reacções enzimáticas que ao se aglutinarem dão origem à formação de trombina, que por sua vez, irá clivar o fibrinogénio na sua forma activa de fibrina. Um coágulo de sangue forma-se no vaso sanguíneo no local da lesão pela interação da deposição de fibrina e das plaquetas que se precipitam para "encerrar a lesão" ou reparar a área danificada no vaso. Sendo a via extrínseca iniciada quando uma lesão vascular expõe o factor tecidual plaquetário (por exemplo a tromboplastina) na superfície subendotelial danificada do vaso sanguíneo. A via intrínseca da cascata de coagulação envolve factores que estão presentes no plasma e, assim, não necessita de uma superfície vascular para formar fibrina. Esta via é rotulada de "intrínseca" pois não necessita de uma superfície danificada para que se inicie, por conseguinte, é equilibrada pela fibrinólise constante *in vivo*.. (Chapin & Hajjar, 2015; Overbey, Jones, & Robinson, 2014; Smith, Travers, & Morrissey, 2015)

Figura 2 – Cascata de coagulação. (Overbey *et al.*, 2014)

	Componente	Activação	Função
Factor Ia	Fibrina	Proteína formada a partir do fibrinogénio (factor I) na presença de trombina	Polimerizados para formar uma malha hemostática
Factor IIa	Trombina	Proteoliticamente clivada a partir da protrombina (factor II)	Serina protease converte cadeias de fibrinogénio solúvel em malhas de fibrina
Factor X	Factor Stuart-Prower	Activado directamente pelo factor tecidular – complexo factor VII, principal via de formação de trombina	Cliva a protrombina produzindo trombina activa na via comum
Factor VII	Proconvertina	Activado originando o factor VIIa após contacto com o factor tecidular na via extrínseca	Uma vez activado, une-se e activa factor X que se converte no factor Xa
Factor tecidular	Tromboplastina	Proteína presente no tecido subendotelial	Receptor com grande afinidade para o factor VII

Tabela 1 – Principais componentes do processo de coagulação, a sua activação e função. (Overbey *et al.*, 2014)

Os factores de crescimento são essenciais para o funcionamento do organismo do ser humano e de todos os seres metazoários. São responsáveis, em conjunto com as citocinas, pela regulação de um processo multicelular baseado numa cadeia de sinais complexa com o intuito de alterar o crescimento, diferenciação, quimiotaxia, apoptose e metabolismo celular. Estes polipeptídeos biologicamente activos são fundamentais no processo de regeneração tecidular participando nas suas diversas fases: inflamação, formação de tecido de granulação, reepitelização, formação e remodelação da matriz celular. (Antonarakis & Wozney, 2014; Barrientos, Brem, Stojadinovic, & Tomic-Canic, 2014)

Existem distintos factores de crescimento sendo que alguns são sintetizados pela maioria das células como é o caso do TGFβ1 (factor de crescimento transformado tipo β). Cada factor de crescimento desempenha um papel específico que varia consoante o tipo de célula que o sintetiza, a célula alvo e o meio que as rodeia. Alguns factores de crescimento possuem a particularidade de serem multifuncionais, ou seja, não só estimulam a proliferação celular de determinados tipos de células e inibem a proliferação celular de outras, como podem ainda estimular outros efeitos noutro grupo de células, como por exemplo ao estimular o metabolismo celular anabólico através da regulação dos transportadores de nutrientes membranários promove o aumento de consumo de nutrientes como a glucose, aminoácidos e glutamina. É este aumento da energia celular e a biossíntese de intermediários como nucleótidos, aminoácidos e ácidos gordos que permite a proliferação celular, tornando os factores de crescimento num dos principais intervenientes no desenvolvimento embrionário e regeneração celular, revelando também um papel activo na progressão cancerígena. Este papel na progressão cancerígena deve-se, segundo estudos recentes, a mutações ou à expressão alterada de moléculas responsáveis pela transdução do sinal que ao mimetizar um constante requerimento de factores de crescimento desregulam o metabolismo celular.

Para que os factores de crescimento actuem sobre uma célula alvo é necessário a existência de um receptor que descodifique e transmita o seu sinal à célula. Estes receptores são proteínas localizadas na superfície da membrana celular que, ao serem activadas pela união dos factores de crescimento, desencadeiam acções biológicas responsáveis pela modulação da função celular transformando um evento extracelular num evento intracelular (figura 3). Estas acções estão directamente relacionadas com a especificidade química, concentração e duração da ligação do factor de crescimento ao seu receptor transmembranário. É esta ligação altamente específica que confere aos

factores de crescimento a capacidade de transmitir a um determinado grupo celular uma informação precisa. O estímulo é então conduzido ao interior da célula, através de mecanismos de transdução de sinal secundários, despoletando uma resposta celular. Uma das principais vias de sinalização é a fosfoinositol 3-quinase: (PI3K)-AKT. (Antonarakis & Wozney, 2014; Chen *et al.*, 2014; Iida *et al.*, 2014; Koria, 2012; Lynch, Colvin, & Antoniadis, 1989)

O mesmo receptor pode ser responsável pela transmissão de sinais distintos, consoante o tipo de célula onde se encontra, embora a mesma célula com o mesmo receptor pode também desencadear diferentes respostas conforme o meio ambiente que a rodeia. Esta transmissão de sinais entre diferentes populações de células contribui para a aceleração do processo de regeneração. (Koria, 2012)

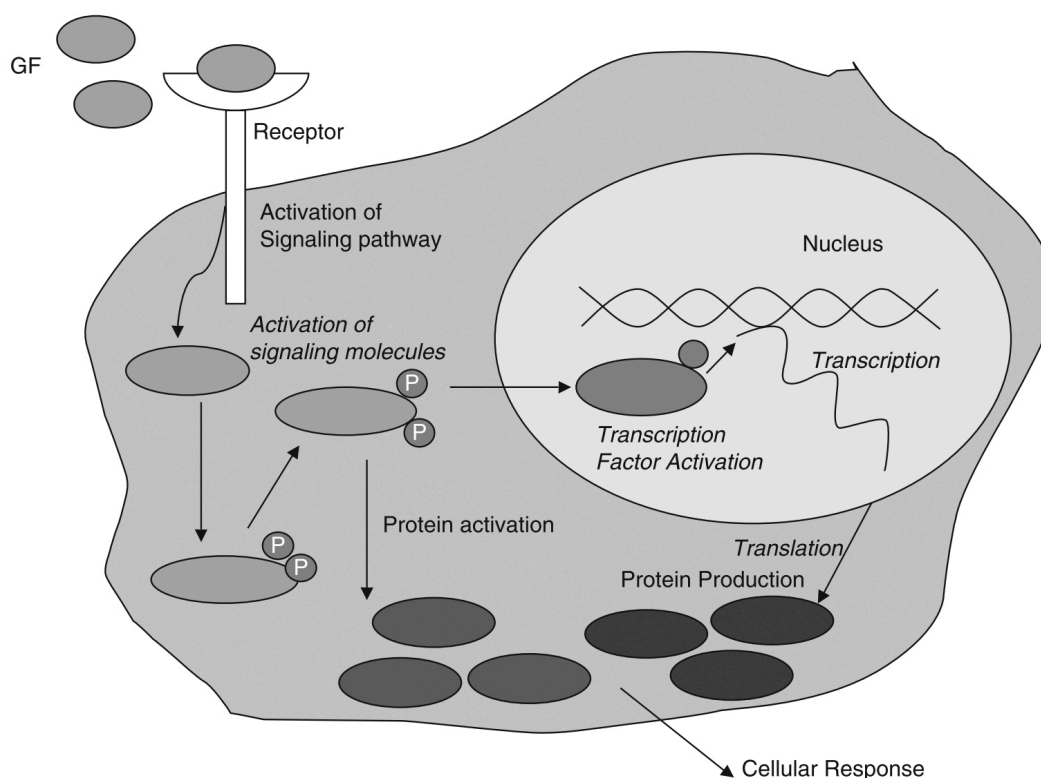


Figura 3 – Mecanismo de acção dos factores de crescimento. O factor de crescimento (GF) liga-se ao respectivo receptor transmembranário e activa a via de sinalização, que por sua vez irá activar as moléculas de sinalização. Estas moléculas podem produzir novas proteínas, activando o factor de transcrição ou activar directamente proteínas, desencadeando uma resposta celular, como por exemplo crescimento, diferenciação, migração, etc. P = fosforilação. (Koria, 2012)

Torna-se então fundamental a gestão da relação loco-temporal de disponibilidade *in situ* dos factores de crescimento para a optimização da regeneração tecidual, pois o mesmo é caracterizado como um processo biológico dependente da regulação exacta do tempo, localização e concentração das moléculas sinalizadoras. Um dos métodos desenvolvidos recentemente que procura aprimorar esta relação, colmatando a moderação na libertação dos seus componentes demonstrada após as suas primeiras aplicações, é a adição dos factores de crescimento à superfície de matrizes tridimensionais, denominadas de *scaffolds* (estrutura em armação tridimensional para suporte), através da interação electrostática e complexação iónica. Deste modo a libertação dos factores de crescimento está dependente da interação das proteínas moduladas pela sua carga energética e rugosidade de superfície. Esta adesão dos factores de crescimento às *scaffolds*, consoante o seu gradiente de concentração, a sua distribuição espacial e densidade, proporciona um aumento na adesão, migração e proliferação celular revelando um papel relevante no equilíbrio e manutenção da estrutura da matriz extracelular. (Koria, 2012; S. Reed & Wu, 2014)

Outra característica que condiciona fortemente a eficácia dos factores de crescimento é a sua concentração, ou seja são dose-dependentes. Concentrações demasiado baixas são insuficientes para obter uma resposta celular e concentrações demasiado altas proporcionam receptores saturados. Devido a esta particularidade a regulação loco-temporal é fundamental pois apenas os tecidos mais próximos contactam com a dose necessária para a resposta celular, ou seja a concentração local do microambiente determina a acção dos factores de crescimento ao invés da dose total aplicada. (Cho *et al.*, 2011; Sundman, Cole, & Fortier, 2011)

Segundo Koria & Wu, (2014), actualmente estão a ser desenvolvidas técnicas que permitem precisar a regulação loco-temporal de acção dos factores de crescimento como: a imobilização covalente, a conjugação química de moléculas biológicas – permite aumentar o seu tempo de vida, e ainda a clivagem mediada por enzimas das *scaffolds* – tem como objectivo estimular o aporte celular ao local danificado.

Os factores de crescimento são indispensáveis para a função celular do nosso organismo e caso estes não estejam disponíveis as células recorrem ao metabolismo catabólico, mais especificamente à autofagia como alternativa para corresponder às necessidades energéticas utilizando os recursos intracelulares, como podemos analisar no esquema subsecutivo:

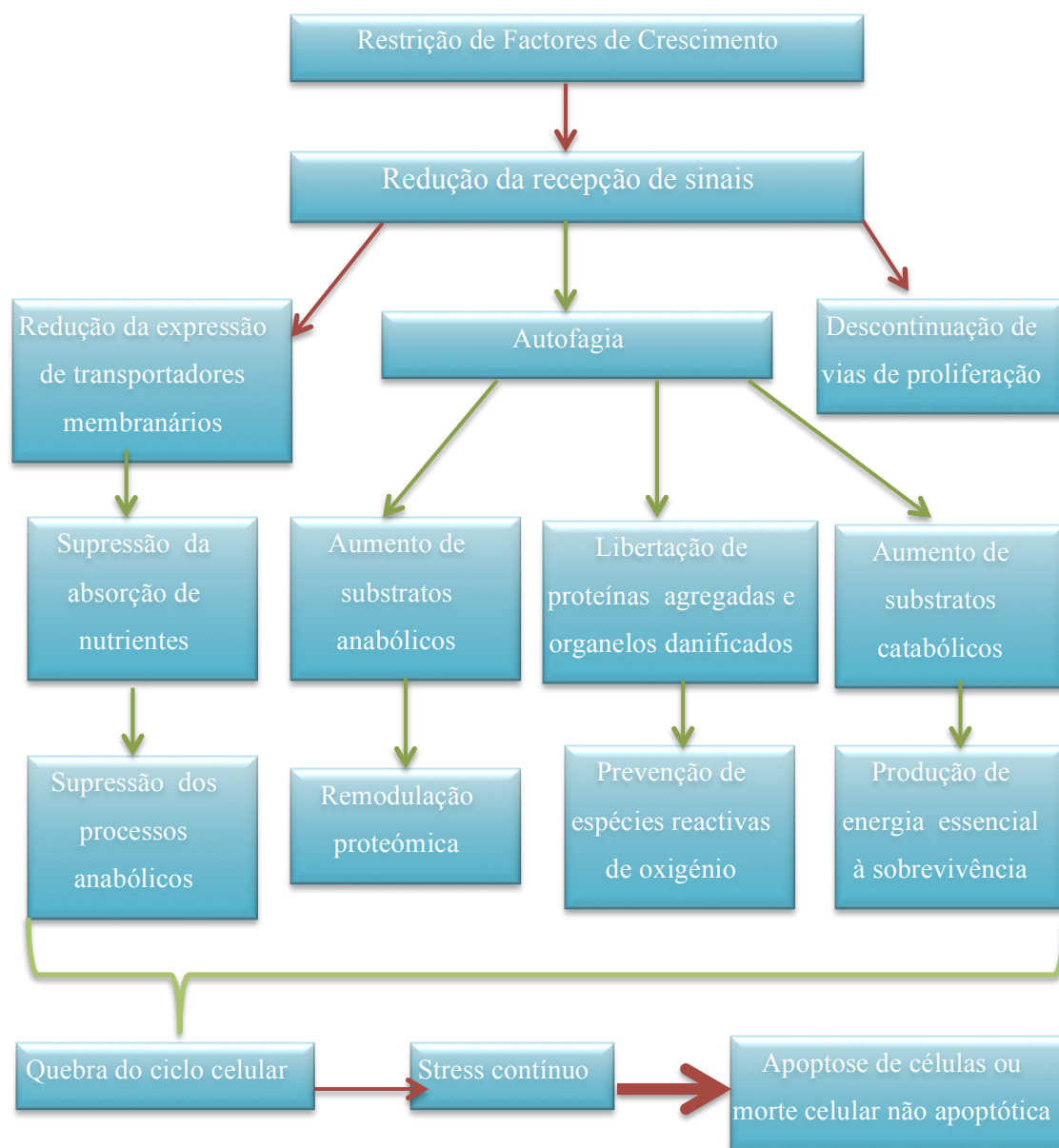


Figura 4 – Esquema com as possíveis respostas celulares dos mamíferos à restrição de factores de crescimento. (Li, Lin, & Lin, 2013)

3. FACTORES DE CRESCIMENTO E OUTRAS MOLÉCULAS PRESENTES NO PRGF

Os principais factores de crescimento que desempenham um papel activo na regeneração tecidual são:

- PDGF – factor de crescimento derivado das plaquetas (platelet derived growth factor).
- TGF- β – factor de crescimento transformado tipo β (beta transforming growth factor).
- EGF – factor de crescimento epidérmico (epidermal growth factor).
- b-FGF – factor de crescimento fibroblástico básico (basic fibroblastic growth factor).
- IGF-I – factor de crescimento insulínico tipo I (insulin like growth factor type I).
- VEGF – factor de crescimento vascular endotelial (vascular endotelial growth factor).

O PDGF encontra-se armazenado nos grânulos α das plaquetas, tratando-se de uma proteína dimérica termo-resistente composta por duas cadeias de aminoácidos (aas) designadas A e B. Estas duas cadeias formadas por 121aas e 125aas, respectivamente, vão originar três isoformas de PDGF – AA, BB e AB. Podemos encontrar concentrações distintas dos três tipos de PDGF consoante o tipo de células, sendo que os valores no ser humano podem variar entre 65% na forma AB, 23% na forma BB e 12% na forma AA, pois os mesmos expressam-se de forma diferenciada. Este factor de crescimento é libertado quando ocorre a agregação das plaquetas e se inicia a cascata de coagulação, desencadeando um processo de replicação das células locais do tecido conectivo. Para que as células respondam ao PDGF necessitam de expressar receptores do tipo α e β , requeridos para a transdução de estímulos mitogénicos e em particular o receptor β para a mediação da estimulação quimiotática. O PDGF foi o primeiro factor de crescimento a ser demonstrado como quimiotático, ou seja, possui a capacidade de atrair diversas células para o tecido lesado, nomeadamente monócitos e macrófagos que se encontrem na corrente sanguínea e em tecidos próximos, contribuindo deste modo

para a regeneração tecidual. Outra das características do PDGF é a sua função mitogénica para as células do mesênquima como fibroblastos, osteoblastos e adipócitos, a estimulação da síntese de colagénio e colagenase, a fagocitose de neutrófilos e promove ainda indirectamente, através da activação de macrófagos, a angiogénese. (Demoulin & Essaghir, 2014; Porsch, Mehić, Olofsson, Heldin, & Heldin, 2014)

A super família TGF- β tem uma constituição estrutural de base sob a forma de um homodímero não glicosilado, e participa numa plêiade de processos fisiológicos a nível corporal. Este factor de crescimento é secretado sob forma inactiva, o latente, e possui um tempo médio de vida de cerca de 90 minutos. No entanto para que exerça actividade biológica deverá estar na sua forma livre, tendo um tempo médio de vida de cerca de 1 a 2 minutos. Esta proteína trata-se de um tipo de citocina que apresenta duas formas latentes, podendo estar associado a uma proteína constituindo a forma LAP (*latency associated peptide*) ou associado a uma proteína de ligação formando a LTBP (*latent TGF- β binding protein*). Os receptores que interaccionam com este factor de crescimento intitulam-se TGFRI e TGFRII e podemos encontrá-los praticamente em todas as células. O TGF- β tem como principais funções modular a proliferação celular, actua usualmente como supressor sendo responsável pela apoptose de inúmeras células; facilita a deposição de matriz extracelular, aumentando a sua síntese e inibindo a sua degradação; intervém na regulação do ciclo celular ao bloquear a progressão da fase G1, promove a síntese de colagénio do tipo I; inibe a formação de osteoclastos e actua como angiogénico. (Azami, Vo Nguyen, Watanabe, & Kato, 2015; Ding *et al.*, 2013; Nicklas & Saiz, 2014; Porsch *et al.*, 2014)

O factor de crescimento epidérmico ou EGF possui uma estrutura e acção biológica semelhante ao factor de crescimento transformado tipo alfa, sendo que ambos estimulam a mitose de fibroblastos e queratinócitos. É uma proteína composta por 53aas, originada por proteólise de uma glicoproteína de membrana. O EGF desempenha um papel activo na regeneração ao produzir um efeito mitogénico e quimiotático nos fibroblastos e células epiteliais e ao estimular a formação de tecido de granulação. O seu receptor denomina-se EGFR e podemos encontrá-lo em grande número em diversas células no nosso organismo como os fibroblastos, pré-osteoblastos e pré-condrócitos. (Haltom & Jafar-Nejad, 2014; Wee, Shi, Jiang, Wang, & Wang, 2015)

O FGF é uma família de proteínas composta por 23 membros com 120aas originários de uma cadeia simples. Este factor de crescimento é armazenado nos grânulos α das plaquetas e é mediado por 4 receptores denominados FGFR1, FGFR2, FGFR3 e FGFR4. A sua forma básica, b-FGF, participa activamente nos mecanismos de regeneração ao estimular a proliferação e migração de células endoteliais capilares, de células endoteliais vasculares ao actuar como angiogénico, de fibroblastos, de queratinócitos, de osteoblastos, de condrócitos, de mioblastos e de células do tecido muscular liso. (Teven, Farina, Rivas, & Reid, 2014; Tsai, Liu, & Wang, 2012)

Outro dos factores de crescimento importantes para a regeneração tecidual é o IGF-I ou factor de crescimento insulínico do tipo I, factor de crescimento que encontramos em maior número na matriz óssea secretado pelos osteoblastos. A sua circulação na corrente sanguínea depende da formação de um complexo com proteínas de ligação, IGFBP, e actua sobre o receptor IGF-IR composto por duas subunidades α e β . Possui um efeito quimiotático nas células endoteliais vasculares e é responsável, não só pela proliferação de pré-osteoblastos induzindo a formação de matriz óssea, diferenciação e proliferação de colagénio tipo I, síntese de osteocalcina e fosfatase alcalina, como também pela proliferação e diferenciação de células estaminais do mesênquima na mitogénese, condrogénese e adipogénese. (Guha, Cowan, Sönksen, & Holt, 2013; Iñiguez *et al.*, 2014; Shen, Xi, Wai, & Clemmons, 2015)

O VEGF é uma proteína homodimérica termo-resistente composta por uma sequência de aminoácidos similar em 24% ao PDGF- β , esta apresenta 5 subformas: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D e o factor de crescimento placentário. Cada variante liga-se de forma diferente aos receptores VEGF agindo de forma autócrina e parácrina sobre os mesmos. Existem três principais receptores de VEGF, o VEGFR-1, VEGFR-2, e VEGFR-3. Este factor de crescimento é uma proteína sinalizadora que actua como quimiotática sobre as células endoteliais ao estimular a sua proliferação e diferenciação que, por sua vez, irão favorecer a angiogénese e hiperpermeabilidade dos vasos sanguíneos. (Berendsen & Olsen, 2014; Park, Thomas, Yoon, & Yoon, 2015)

Existem ainda, presentes no plasma rico em factores de crescimento, outras moléculas que desempenham um papel importante na regeneração tecidual como o factor plaquetário 4 (PF4), o ATP (trifosfato de adenosina) e ADP (difosfato de adenosina), a angiopoietina-2 (Ang2) e a fibronectina.

O PF4 é considerado uma citocina quimiotática que actua sobre neutrófilos e fibroblastos, possui uma acção de inibição da proliferação celular endotelial e regula a angiogénese. (Görrar *et al.*, 2015)

Outras moléculas responsáveis pela amplificação da resposta inicial perante um tecido lesado são o ATP e o ADP. Estas são armazenadas nos grânulos das plaquetas e a sua libertação ocorre perante a activação das mesmas, sendo responsáveis pela activação de outras plaquetas. (Hiasa *et al.*, 2014)

A Ang2 e o VEGF desempenham a sua função conjuntamente, fomentando a neoangiogénese. Caso este factor de crescimento não se encontre presente esta hormona irá destabilizar os vasos sanguíneos podendo desencadear apoptose dos mesmos. (Berendsen & Olsen, 2014)

A fibronectina é uma glicoproteína de alto peso molecular que estimula o crescimento e migração celular para os coágulos, participando activamente na formação da matriz extracelular interligando os seus componentes, como o colagénio, fibrina e heparina. Existe em circulação no plasma – fibronectina plasmática – sintetizada pelo fígado e secretada para o sangue, e em depósitos locais – fibronectina celular – sintetizada por diversos tipos celulares. É um dímero com duas subunidades, o terminal N responsável pela acoplação de fibrina e colagénio e o terminal C onde se interliga a integrina. É o terminal N que proporciona a incorporação da fibronectina plasmática nas paredes dos vasos sanguíneos através da interacção com o colagénio exposto após a lesão dos tecidos, e permite a interacção com o terminal C da cadeia α de fibrina através do factor XIIIa, e assim, incorporar a fibronectina na formação de coágulos de fibrina. O terminal C é também relevante para a hemostase, por sua vez viabiliza a formação de uma matriz de fibronectina plasmática ao permitir a ligação a integrinas nas células endoteliais, a fibroblastos e às plaquetas aderentes, o qual pode contribuir para a acumulação plaquetária e formação do tampão hemostático. (Carraher & Schwarzbauer, 2013; Moroz & Deffune, 2013; Wang *et al.*, 2014)

4. PLASMA RICO EM PLAQUETAS (P.R.P.)

O plasma rico em plaquetas é maioritariamente composto por um concentrado de plaquetas, entre outros elementos como fibrina, factores de crescimento, leucócitos e outras células presentes em circulação no plasma sanguíneo, com o objectivo de fomentar a regeneração dos tecidos. Estes preparados são concebidos a partir de procedimentos de separação de elementos sanguíneos segundo o seu gradiente de concentração com o intuito de descartar as células que não interagem na regeneração tecidular, como por exemplo as células vermelhas, dando enfoque às restantes. Tornando-se deste modo susceptível para uso terapêutico, seja tópico ou infiltrativo. Uma das principais características destes formulados é não se tratarem de preparações farmacêuticas mas sim de tecidos próprios do dador/receptor, eliminando quaisquer complicações relacionadas com a compatibilidade. Têm como objectivo estimular e acelerar os processos de regeneração nos locais lesados promovendo a formação de um coágulo. (Akhundov *et al.*, 2012; Albanese, Licata, Polizzi, & Campisi, 2013)

Os PRPs surgiram como alternativa às colas de fibrina, usadas há mais de 40 anos como adjuvantes cirúrgicos, sendo descritos pela primeira vez na literatura científica nas investigações de Matras na década de 1970 sobre as colas de fibrina. O principal constituinte destas colas é uma matriz de fibrina utilizada para promover a regeneração tecidular, pois conforme foi descrito anteriormente, o resultado final do processo de coagulação é a formação de uma matriz de fibrina.

Cerca de uns anos depois, 1975-1979, surge o gel de plaquetas ou mistura de plaquetas-fibrinogénio-trombina, tratando-se de um conceito aprimorado das colas de fibrina com a inclusão substancial de um concentrado de plaquetas, aliando as propriedades de regeneração das plaquetas à fibrina. Esta alteração veio permitir uma maior biocompatibilidade destes preparados devido à inserção de constituintes naturais do sangue, introduzindo os PRPs que conhecemos actualmente. (Ehrenfest *et al.*, 2014; Mozzati *et al.*, 2010)

Estas novas técnicas começaram a ser denominadas como factores de regeneração tecidular derivados de plaquetas ou fórmula PDWHF (*platelet-derived wound healing factors*) e obtiveram bastante sucesso no tratamento de úlceras, cirurgia geral, neurocirurgia e oftalmologia. É depois em 1997 e 1998 com os artigos de Whitman e Marx *et al.*, respectivamente, que se introduz o conceito de factores de

crescimento plaquetários na cirurgia oral e maxilofacial, desenvolvendo a noção de medicina regenerativa. (Lee, Nam, Kim, & Yoo, 2015; Martín *et al.*, 2012)

Com o contínuo desenvolvimento destas técnicas e a criação de novos preparados surgiu uma das principais contrariedades, fortemente discutida pela comunidade científica – a falta de consenso e terminologia apropriada. Ou seja, todos estes produtos eram denominados de PRPs sem ter em consideração o seu conteúdo ou arquitectura. A primeira alteração a esta terminologia surge com a introdução do Plasma Rico em Fibrina ou PRF (*Platelet-Rich Fibrin*), desenvolvido em França, tendo como principal diferença a polimerização da preparação através de um gel activo de fibrina. A segunda alteração é bastante mais recente e ocorre quando vários autores sublinham a particularidade da associação dos concentrados de plaquetas a outras formas em circulação, especificamente os leucócitos, introduzindo a letra L (leucócitos) na nomenclatura. Devido às dificuldades sentidas pela comunidade científica foi proposta em 2009 uma classificação geral baseada nos componentes destas preparações. Esta classificação define 4 famílias distintas, desagregadas com base em dois parâmetros: a arquitectura da fibrina e a presença do conteúdo celular (principalmente leucócitos). (Ehrenfest *et al.*, 2014; Ehrenfest, Bielecki, Corso, Inchingolo, & Sammartino, 2010)

4.1 PLASMA RICO EM PLAQUETAS PURO OU P-PRP (PURE PLATELET-RICH PLASMA)

Outro modo de designar estes preparados é por plasma rico em plaquetas pobre em leucócitos, e como o próprio nome indica tratam-se de preparações sem leucócitos e com uma rede de fibrina de pequena densidade após activação. Estes formulados têm como particularidade a possibilidade de serem aplicados sob forma líquida ou de gel. Deste modo, podem ser aplicados topicamente ou sobre uma sutura após um procedimento cirúrgico – forma de gel, ou de modo injectável – forma líquida, sendo a última bastante utilizada na medicina desportiva. A sua preparação é feita, utilizando um método de separação dos constituintes sanguíneos segundo o seu gradiente de concentração, através de centrifugação. Esta técnica está descrita em detalhe nos materiais e métodos desta investigação. (Assirelli *et al.*, 2015; Cavallo *et al.*, 2014; Zhou, Zhang, Wu, Hogan, & Wang, 2015)

	Leucocitos ($\times 10^6/\text{ml}$)	Plaquetas ($\times 10^6/\text{ml}$)	TGF- β (ng/ml)	PDGF-AB (ng/ml)	IGF-I (ng/ml)	VEGF (pg/ml)	HGF (pg/ml)	EGF ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
PRGF	<0,3	663	81	30	86	791	491	779

Tabela 2 – Diferentes concentrações de leucócitos, plaquetas e alguns factores de crescimento presentes no plasma e PRGF. Ng/ml – nanograma por mililitro, pg/ml – picograma por mililitro, $\mu\text{g}/\text{ml}$ – micrograma por mililitro.

4.2 PLASMA RICO EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS OU L-PRP (LEUKOCYTE-AND PLATELET-RICH PLASMA)

Estas preparações, apesar de também apresentarem uma rede de fibrina pouco densa, diferem das anteriores no seu conteúdo celular pois apresentam células brancas denominadas leucócitos. Alguns autores atribuem efeitos deletérios à presença de leucócitos em preparação PRP, devido à libertação de mediadores inflamatórios, como as proteases e oxigénio reactivo por estas células. Por outro lado, os leucócitos podem ser considerados como uma fonte de citocinas e enzimas que parecem estar envolvidos na prevenção da infecção. O seu modo de aplicação é idêntico ao dos P-PRPs – aplicação tópica ou injectável, devido à semelhante rede de fibrina. (Cavallo *et al.*, 2014; Giovanini *et al.*, 2014)

4.3 FIBRINA RICA EM PLAQUETAS PURA OU P-PRF (PURE PLATELET-RICH FIBRIN)

Estes sistemas consistem em preparações sem leucócitos com uma rede de fibrina de elevada densidade e podem ser igualmente denominados de Fibrina Rica em Plaquetas Pobre em Leucócitos. A principal característica destes produtos é a sua capacidade de serem manipulados como objectos sólidos. Exclui-se assim o seu uso de modo injectável ou como as tradicionais colas de fibrina, diferenciando-se deste modo das preparações supracitadas. (Ehrenfest *et al.*, 2014, 2010)

4.4 FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LUCÓCITOS OU L-PRF (LEUKOCYTE AND PLATELET-RICH FIBRIN)

Estes produtos, como o seu nome indica, são preparações que incluem leucócitos nos seus constituintes e que apresentam uma rede de fibrina de elevada densidade. Assim como os P-PRF, não são passíveis de serem usados de modo injectável ou como as tradicionais colas de fibrina, devido à sua elevada densidade, mas sim manipulados como um material sólido. Estes produtos têm a particularidade de não utilizarem anticoagulantes e agregantes plaquetários na sua preparação. (Chang & Zhao, 2011)

Autores	Ano de publicação	Total de pacientes	Follow ups (sem.)	Tratamento	Resultados gerais	Eficácia do PRP
<i>Anitua et al.</i>	2006	20	295	Implantologia	Melhoria no prognóstico dos implantes	Alta
<i>Anand et al.</i>	2012	11	2-4-12-24	Implantologia	Melhoria na aposição óssea em redor do implante	Alta
<i>Gentile et al.</i>	2010	15	2-4-12-24	Cirurgia reconstrutiva da mandíbula	Eficácia do PRP no tratamento em termos de satisfação dos pacientes e morbilidade reduzida	Alta
<i>Wojtowicz et al.</i>	2007	16	12	Aumento ósseo mandibular	PRP é mais eficaz do que medula óssea contendo células CD34+	Alta
<i>Dalif</i>	2012	24	1-12-24	Regeneração óssea de fracturas mandibulares	Aplicação directa de PRP nas linhas de fractura pode aumentar a regeneração óssea em fracturas mandibulares	Alta
<i>Khairy et al.</i>	2012	15	12-24	Aumento do seio maxilar	Enxertos com PRP foram associados a uma densidade óssea superior 6 meses após enxerto.	Alta
<i>Poeschi et al.</i>	2012	14	28	Aumento do seio maxilar	Aumento da formação de novo osso quando uso de PRP	Alta
<i>Cabbar et al.</i>	2011	10	28	Aumento do seio maxilar	Sem melhorias estatisticamente significativas	Baixa

Tabela 3 – Resumo do resultado geral de diversos estudos onde foi empregue o uso de PRP em cirurgias de tecidos moles e duros. (Albanese *et al.*, 2013)

5. O PRP E A EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES INCLUSOS

Segundo Mozzati *et al.* (2010) “a extração de terceiros molares inclusos é um procedimento recorrente no âmbito da cirurgia oral e maxilofacial. Contudo apesar do desenvolvimento de novas técnicas e materiais, este tipo de cirurgia continua a ser responsável por diversos sintomas e complicações pós-operatórias, provocando uma alteração temporária na qualidade de vida dos pacientes”. Os sintomas pós-operatórios mais usuais neste tipo de cirurgias são o edema facial, dor e trismos e geralmente ocorrem na primeira semana, sendo as infecções, hemorragias e alveolites as complicações mais comuns. As preparações ricas em plaquetas ao secretarem factores de crescimento e outras proteínas promovem o processo de regeneração, através de mecanismos anteriormente descritos como a quimiotaxia, angiogénese, proliferação e diferenciação celular. A preparação é deste modo colocada na ferida cirúrgica fomentando a regeneração dos tecidos moles e duros que, segundo diversos autores como podemos verificar na tabela 4, irá diminuir os sintomas supracitados e acelerar o processo de regeneração óssea. (Barona-Dorado, González-Regueiro, Martín-Ares, Arias-Irimia, & Martínez-González, 2014)

A extração dentária é um procedimento cirúrgico e, como qualquer outra cirurgia, requer um processo de regeneração/cicatrização que irá afectar, neste caso, o volume e a arquitectura óssea alveolar remanescente. A reconstituição funcional dos tecidos perdidos está directamente dependente de uma regeneração tecidual satisfatória no mínimo tempo possível, deste modo uma exodontia traumática ou dificuldades na regeneração dos tecidos levam a uma excessiva perda óssea, podendo ser necessárias cirurgias reconstrutivas geralmente dispendiosas protelando a substituição da peça dentária perdida ou até mesmo provocando defeitos ósseos impossíveis de corrigir. (Mozzati *et al.*, 2010; Rutkowski, Johnson, Radio, & Fennell, 2010)

Imediatamente após o procedimento de extração dentária inicia-se uma cascata de reacções inflamatórias e a loca cirúrgica é temporariamente encerrada por um coágulo. A integridade do tecido é geralmente restituída após a proliferação e migração do tecido epitelial no final da primeira semana e os primeiros sinais histológicos de formação óssea são geralmente encontrados após duas semanas, na medida em que a regeneração óssea total demora em média cerca de 6 meses após a extração dentária. (Nazaroglou *et al.*, 2009)

Uma das principais complicações pós-operatórias na extração dentária é a osteíte alveolar com uma prevalência de cerca 20% a 30%. A sua etiologia, apesar de desconhecida, está fortemente associada ao aumento da actividade fibrinolítica relacionada com o trauma cirúrgico, fibrinólise patogénica, alterações enzimáticas, presença de bactérias e outros factores sendo que o seu tratamento é sintomático. (Motamedi, Alavi, Adibnejad, Haraji, & Lassemi, 2012)

Autores	Ano de public.	Total de pacientes	Follow ups (sem.)	Resultados gerais	Eficácia do PRP
<i>Alyssa et al.</i>	2010	23	12	Relevância estatística na melhoria na regeneração em tecidos moles e duros, e na redução de dor e complicações pós operatórias	Alta
<i>Ogundipe et al.</i>	2011	11	12	Relevância estatística na redução da dor. Melhoria no edema e na densidade óssea mas sem tradução estatística.	Moderada
<i>Ruktowskiet al.</i>	2010	12	25	Relevância estatística no aumento precoce da densidade radiográfica óssea. Sem alterações significativas na dor e hemorragia pós-operatória.	Moderada
<i>Celio-Mariano et al.</i>	2012	15	1-4-8-12-24	Forte melhoria na regeneração óssea	Alta
<i>Arenaz-Bua et al.</i>	2012	82	12-24	Sem alterações na formação óssea, dor, edema, trismos e infeções	Baixa
<i>Gurbuzer et al.</i>	2008	12	1-4	Sem alterações da actividade osteoblástica	Baixa

Tabela 4 - resumo do resultado geral de artigos de autores que utilizaram a técnica do PRP em extrações dentárias. (Albanese *et al.*, 2013)

Os seus sintomas são geralmente dor no local de extração, cefaleias, dor orofacial, halitose e disgeusia. Segundo Moatamedi *et al.* (2012), a aplicação do PRGF pode prevenir significativamente a osteíte alveolar devido às suas propriedades angiogénicas e promoção da regeneração, principalmente em pacientes mais susceptíveis como os bruxómanos ou com história de pericoronarite.

Por conseguinte seria benéfico, não só para os clínicos, mas principalmente para os pacientes, um procedimento de extração dentária com uma terapia regenerativa simples, eficaz e económica. Terapia esta responsável pela diminuição do tempo necessário à regeneração tecidual ampliando a predictabilidade de resultados favoráveis. Pretende-se com este estudo avaliar e determinar as vantagens regenerativas obtidas utilizando a técnica do PRGF após a extração dentária de terceiros molares inclusos. (Albanese *et al.*, 2013)

Autores	Ano de Publ.	Total de pacientes	Follow ups (sem.)	Tratamento	Resultados gerais	Eficácia do PRP
Pradeep <i>et al.</i>	2009	20	24	Defeitos de furcas	Encerramento não completo dos defeitos	Baixa
Menezes <i>et al.</i>	2012	60	48-192	Defeitos infra-ósseos	Efeito positivo quando utilizado em conjunto com materiais de enxerto, mas não quando utilizado sozinho	Baixa
Saini <i>et al.</i>	2011	20	12-24-36	Defeitos infra-ósseos	Efeito positivo quando utilizado em conjunto com materiais de enxerto	Moderada
Bharadwaj <i>et al.</i>	2011	10	24	Defeitos infra-ósseos	Melhorias significativas em PD,CAL e rádio-densidade ossea	Alta
Ozdemir <i>et al.</i>	2012	14	24	Defeitos infra-ósseos	Efeito positivo quando utilizado em conjunto com materiais de enxerto, mas não quando utilizado sozinho	Baixa
Harnack <i>et al.</i>	2009	22	24	Defeitos infra-ósseos	Sem melhorias em PPD e CAL	Baixa
Rodrigues <i>et al.</i>	2011		12-24-36	Defeitos infra-ósseos	Efeito positivo quando utilizado em conjunto com materiais de enxerto, mas não quando utilizado sozinho	Baixa
Dori <i>et al.</i>	2008	26	48	Defeitos infra-ósseos	Sem melhorias	Baixa
Dori <i>et al.</i>	2009	30	48	Defeitos infra-ósseos	Sem melhorias	Baixa
Piemonte <i>et al.</i>	2008	60	48	Defeitos infra-ósseos	Sem melhorias	Baixa
Keceli <i>et al.</i>	2008	40	6-36-48	Enxertos radiculares	Sem melhorias	Baixa

Tabela 5 - Resumo do resultado geral de diversos artigos de autores que utilizaram a técnica do PRP em cirurgias periodontais

6. O PRP E A MEDICINA ORAL

6.1 O PRP NA PERIODONTOLOGIA

Tendo em conta as diversas propriedades dos PRPs, como a proliferação de fibroblastos, regulação da síntese do colagénio na matriz extracelular, aumento da mitose de osteoblastos e tecido vascular, estes seriam fortes candidatos como adjuvantes na cirurgia periodontal para a regeneração dos tecidos moles periodontais e tratamento de defeitos infra ósseos. Contudo a sua eficácia não se tem verificado segundo diversos autores, como podemos observar na tabela 5. Alguns dos estudos revelaram uma melhoria no tratamento de recessões gengivais, excluindo as periodontites crónicas, sendo que a maioria dos estudos revelaram alguma melhoria na combinação do uso de PRP com materiais de enxertos, ao invés do material por si só ou somente o PRP, complicando assim a análise dos benefícios isolados do PRP como técnica regenerativa. (Albanese *et al.*, 2013; Mansouri, Ghasemi, Darmian, & Pourseyediyan, 2012)

Outra técnica de medicina regenerativa autóloga que tem demonstrado alguns resultados promissores na cirurgia periodontal é o PRF, que segundo Chang & Zhao, (2011), reduz a profundidade de sondagem, fortalece o ligamento periodontal e promove o preenchimento de defeitos ósseos.

6.2 O PRP NA ENDODONTIA

Por outro lado o PRGF, uma técnica específica de PRP, tem vindo a demonstrar resultados promissores noutra vertente da medicina dentária - a endodontia. Neste caso em particular, como técnica a utilizar após uma perfuração da membrana do seio maxilar durante a cirurgia endodôntica. Após a cirurgia endodôntica é frequente experienciar dor, edema e hematomas, sendo que uma complicação igualmente usual é a perfuração da membrana de Schneider, devido à relação íntima radicular de alguns molares da maxila com o pavimento do seio maxilar. Esta perfuração inibe a actividade ciliar, o que irá desencadear alterações no muco, dando origem a hemorragias nasais e obstrução do seio devido à inflamação e infecções agudas ou crónicas. O PRGF devido às suas propriedades revelou-se uma ferramenta útil perante esta complicação diminuindo o desconforto pós-operatório dos pacientes. (Taschieri, Corbella, Tsesis, & Del Fabbro, 2014)

6.3 O PRP E A ESTOMATITE AFTOSA RECORRENTE

Outra das aplicações do PRGF na medicina oral é o seu uso no tratamento da estomatite aftosa recorrente. Esta patologia tem etiologia desconhecida, sendo que o seu tratamento é sintomático na medida em que procura reduzir o número e tamanho das úlceras e aumentar o período de intervalo de recorrência. O PRGF, devido às suas propriedades, intervém na modelação da regeneração dos tecidos afectados ao ser utilizado na implementação de segmentos epiteliais no tecido conectivo, eliminando deste modo o *status* patogénico e inflamação recorrente local. Esta terapia demonstrou efeitos promissores no tratamento de períodos agudos e na prevenção da sua recorrência. (Aminabadi, 2008)

6.4 O PRP E A OSTEONECROSE DOS MAXILARES ASSOCIADA AO USO DE MEDICAMENTOS

Uma das complicações medicamentosas mais sentidas na medicina oral é a osteonecrose dos maxilares associada ao uso de medicamentos, dentre estes avulta o papel dos bifosfonatos (OMAB), não podendo contudo esquecer a importância cada vez maior dos anticorpos monoclonais e dos anti-angiogénicos utilizados no controlo do *turn over* tecidular. Estes fármacos são responsáveis pela anti-remodelação óssea e utilizados para o tratamento de patologias ósseas metabólicas, como por exemplo osteoporose ou metástases ósseas. A OMAB é caracterizada como uma área avascular de osso necrótico na região maxilofacial, com ou sem osso exposto, incapaz de regenerar em 8 semanas, num paciente sem história de cancro oral ou radioterapia prévia na região craniofacial. Segundo a Associação Americana de Cirurgiões Orais e Maxilofaciais a causa primária do surgimento de OMAB, cerca de 66%, é a extração dentária. Visto que os restantes 34% estão relacionados com trauma agudo ou crónico e infecções.

Os pacientes que fazem terapia com estes medicamentos tem a sua qualidade de vida bastante afectada e apresentam uma dificuldade acrescida na regeneração óssea devido à diminuída vascularização e aporte de substâncias necessárias. Perante esta patologia não existe ainda um consenso na comunidade médica sobre qual a melhor terapia, variando de tratamentos médicos, tópicos, cirurgias radicais e cirurgias conservadoras, tendo todas elas como objetivo primordial eliminar a dor e controlar a

progressão da infecção e necrose óssea. A terapia com concentrados plaquetários autólogos surgiu como complemento à cirurgia conservadora como meio de aumentar a regeneração óssea. Os factores de crescimento presentes nestes concentrados, procuram acelerar a regeneração epitelial, diminuir a inflamação pós-cirúrgica, melhorar a regeneração dos tecidos moles e duros e sobretudo, promover a vascularização dos tecidos. Este acréscimo de vascularização é um dos principais benefícios deferidos ao uso de PRPs. Segundo diversos estudos enunciados na tabela 6, a terapia com PRPs tem vindo a demonstrar resultados promissores, actuando como adjuvante à cirurgia minimamente invasiva. (Albanese *et al.*, 2013; Del Fabbro, Gallesio, & Mozzati, 2015; Mozzati, Gallesio, Arata, Pol, & Scoletta, 2012)

Autores	Ano de pub.	Num. de casos	Follow ups (meses)	Tipo de lesão	Tratamento	Resultados gerais	Eficácia do PRP
Curi <i>et al.</i>	2007	3	6-8	Lesões mandibulares		Resolução de todas as lesões	Alta
Lee <i>et al.</i>	2007	2	6-9	Comunicação oro-antral e lesão do ramo mandibular	Implantologia	Resolução da dor e encerramento completo das lesões	Alta
Adornato <i>et al.</i>	2007	12	6	Úlceras e exposição óssea	Ressecção marginal limitada pelo osso alveolar	10 pacientes demonstraram recuperação completa dos tecidos moles	Alta
Cetinerz <i>et al.</i>	2009	1	6	Osso necrótico exposto no alvéolo	Ressecção marginal do osso necrótico	Completa regeneração da mucosa oral e osso alveolar	Alta
Bocanegra <i>et al.</i>	2012	8	14	Osso necrótico exposto na maxila e mandíbula	Remoção do osso necrótico e curetagem do osso remanescente	Regeneração rápida da mucosa, redução do uso de analgésicos e resolução das lesões orais sem evidências de osso exposto	Alta
Mozzati <i>et al.</i>	2012	32		Lesões mandibulares	Ressecção do osso necrótico	Resultados positivos demonstrados pelo raio-x panorâmico e TC	Alta
Coviello <i>et al.</i>	2012	7	3	Lesões mandibulares	Desbridamento cirúrgico e cirurgia dos sequestros ósseos	Melhorias na regeneração tecidual e redução do osso exposto	Alta

Tabela 6 - Resumo do resultado geral de artigos que demonstram a eficácia do PRP utilizado em pacientes com Osteonecrose dos maxilares associada ao uso de bifosfonatos. (Albanese *et al.*, 2013)

7. O PRP E A MEDICINA EM GERAL

Os avanços científicos na biologia celular e molecular e a compreensão crescente dos mecanismos de regeneração tecidual têm vindo a estimular a investigação e desenvolvimento da medicina regenerativa e a engenharia de tecidos, determinando a aplicação destes preparados plaquetários em diversos campos da Medicina. A sua primeira aplicação clínica consistiu no tratamento de úlceras crónicas, onde estas seriam preenchidas por colagénio embebido em proteínas secretadas pelas plaquetas que iriam estimular a formação de tecido conectivo vascularizado. Segundo Barrientos *et al.* (2014), estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram desregulação de vários factores de crescimento, como o PDGF, VEGF e FGFb, em lesões não regeneráveis agudas e crónicas sugerindo um potencial acrescido a estas terapias.

A terapia com PRPs tem sido advogada por diversos estudos, sobretudo no tratamento de lesões ortopédicas. Foi demonstrado por estudos recentes que os factores de crescimento libertados pelo PRGF aumentaram significativamente a proliferação de células dos tendões, estimulando-as a produzir factores como VEGF e HGF (factor de crescimento humano).

Existem diversas outras aplicações destas terapias na Medicina, como no tratamento de patologias oftálmicas, dermatológicas, enxertos de tecido gordo, alopecia medicina estética e desportiva . (Anitua, Sánchez, Orive, & Andía, 2007; Barrientos *et al.*, 2014; Cervelli *et al.*, 2014; Kim, Shin, & Kim, 2012; Modarressi, 2013; Yuksel, Sahin, Aydin, Senturk, & Turanli, 2014)

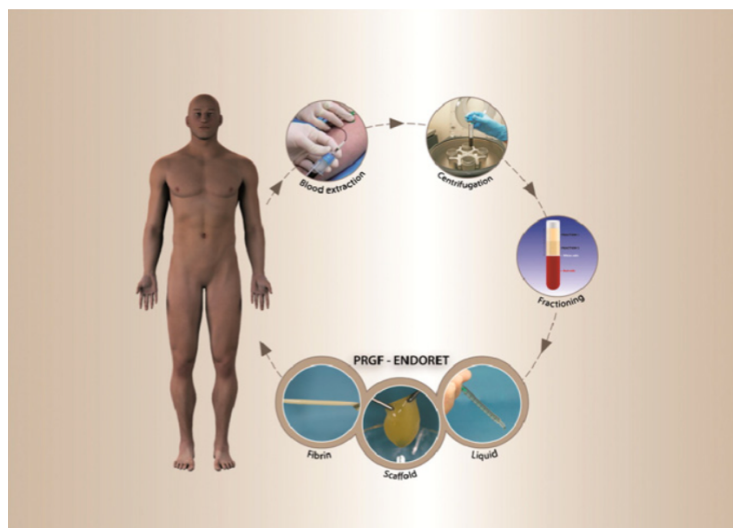


Figura 5 – Esquema ilustrativo sobre a técnica do PRGF. (Anitua, Alkhraisat, & Orive, 2012)

II. MATERIAIS E MÉTODOS

Na elaboração desta investigação foram consideradas cirurgias de extração de terceiros molares inclusos nas duas arcadas de 20 pacientes. Deste modo o controlo foi proporcionado por uma cirurgia e outra determinou o grupo de estudo, onde foi observada a eficácia da regeneração tecidual promovida pelo PRGF, perfazendo um total de 40 cirurgias. Foi proposto como critérios de exclusão qualquer paciente que padecesse de patologias, com intento de fiabilizar os resultados obtidos na avaliação da regeneração dos tecidos. Todos os pacientes participantes nesta investigação tomaram conhecimento e subscreveram um consentimento informado devidamente aprovado pela comissão de ética do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

A técnica de PRP selecionada para a obtenção de um coágulo autólogo rico em plaquetas foi a do PRGF, desenvolvida por Eduardo Anitua, seguindo o subsequente protocolo:

- i. Recolha de amostra de sangue, 12 ml para tubo de ensaio estéril com citrato de sódio a 3,8% (anticoagulante).
- ii. Centrifugação da amostra durante 8 minutos a 1800rpm.
- iii. Obtenção da fragmentação do plasma segundo os diferentes gradientes de densidade, a série vermelha que se deposita no fundo do tubo e o plasma que corresponde ao sobrenadante, dividindo-se por sua vez em PPGF (plasma pobre em factores de crescimento), PGF (plasma com alguns factores de crescimentos) e a fracção que nos interessa PRGF (plasma rico em factores de crescimento) sendo esta a fracção mais próxima da série vermelha.
- iv. Pipetagem com pipeta de 500 µl da 1ª e 2ª fracção (PPGF e PGF) para um tubo de vidro estéril previamente identificado.
- v. Pipetagem com pipeta de 100 µl da 3ª fracção (PRGF) 5 vezes, ($5 \times 100 \mu = 500 \mu\text{L}$), para um tubo de vidro estéril previamente identificado.
- vi. Activação das plaquetas com 50µl de cloreto de cálcio por cada 1000µl de PRGF.
- vii. Obtenção do coágulo após cerca de 15 minutos.

(Cocero *et al.*, 2014; Motamedi *et al.*, 2012; Mozzati *et al.*, 2010; Mozzati, Gallesio, Di Romana, Bergamasco, & Pol, 2014; Nazaroglou *et al.*, 2009; Rutkowski *et al.*, 2010)



Figura 9 – Recolha de sangue (i)

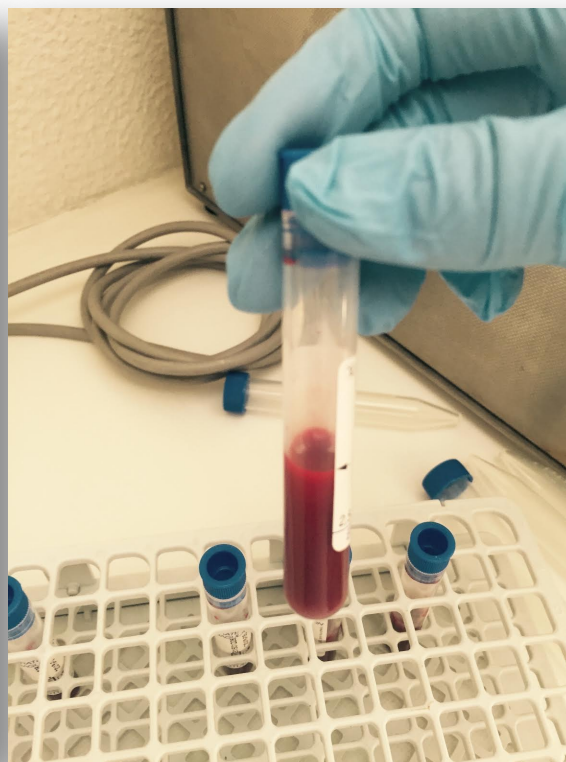


Figura 7 – Colocação de amostra do tubo de citrato de sódio a 3,8% (i.)



Figura 8 – Centrifugação da amostra (ii.)

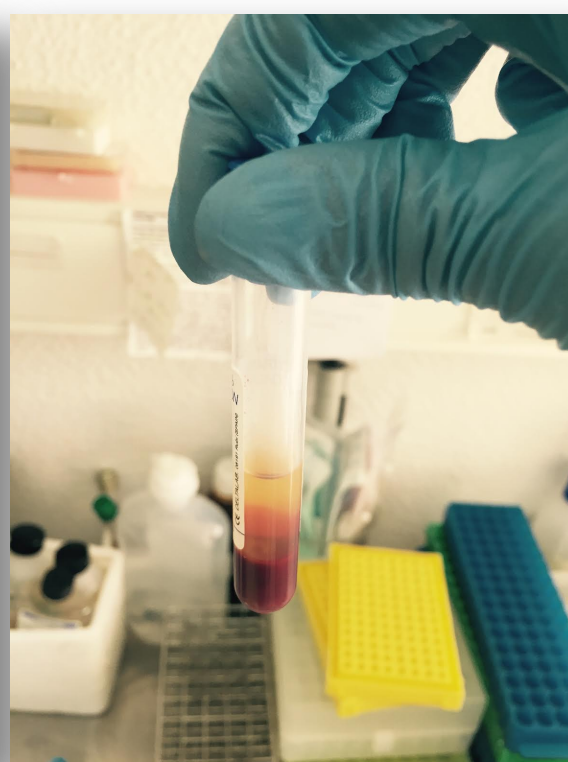


Figura 6 – Fragmentação do plasma segundo os diferentes gradientes de densidade (iii.)



Figura 11 – Pipetagem das diferentes fracções de plasma (iv.)

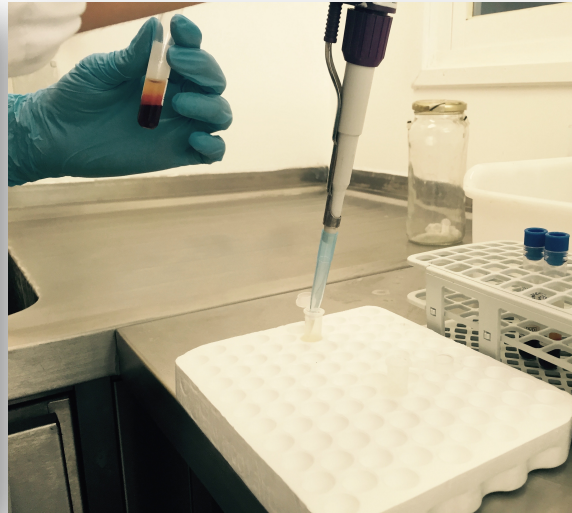


Figura 10 – Colocação das diferentes fracções de plasma nos respectivos tubos (iv.)

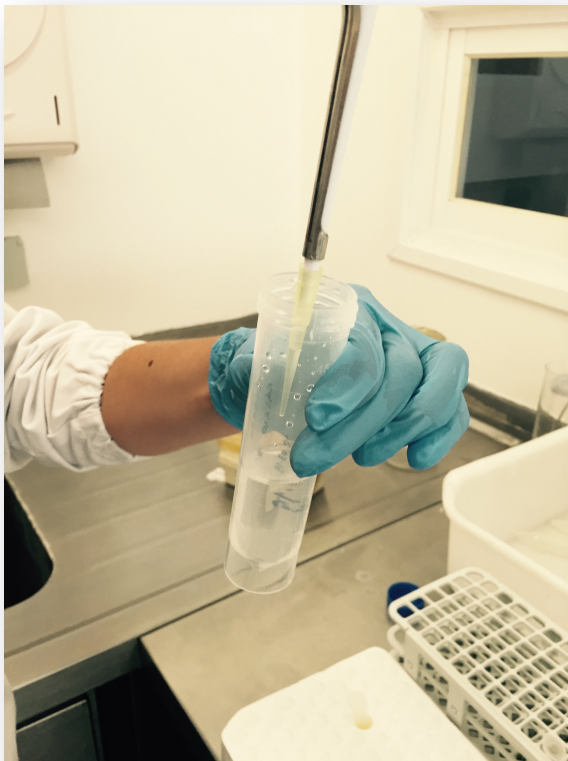


Figura 13 – Activação das plaquetas com cloreto de cálcio (vi.)

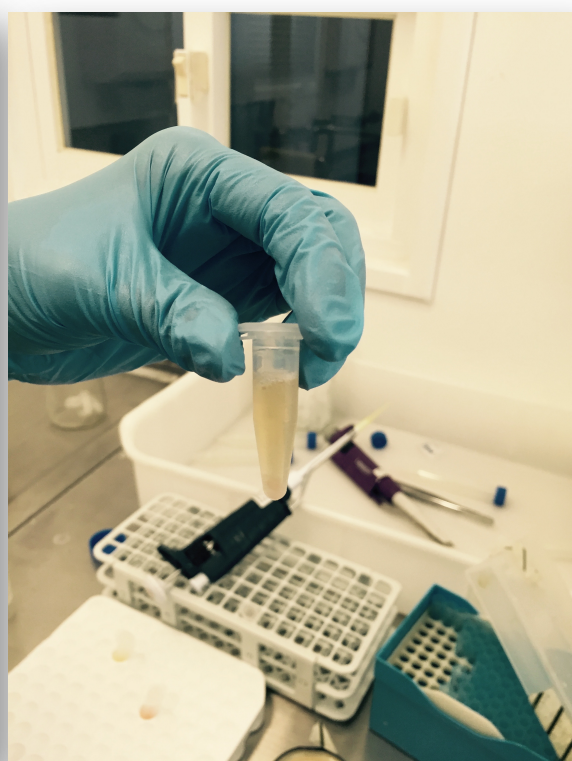


Figura 12 – Obtenção do coágulo após cerca de 15 minutos (vii.)

As cirurgias de extração de terceiros molares inclusos foram praticadas pelo mesmo cirurgião, especializado nestes procedimentos, e toda a metodologia desta investigação regeu-se pelo protocolo ulterior:

- i. Aplicação de consentimento Informado.
- ii. Recolha de dados do paciente.
- iii. Avaliação clínica e motivo da extração.
- iv. Observação de registo radiológico (ortopantomografia).
- v. Registo de grau de dificuldade de extração segundo classificação de Pell y Gregory.
- vi. Registo das medidas faciais, F1, F2, F3, e F4, conforme a figura 13, com uma régua flexível e explicação das mesmas ao paciente.
- vii. Recolha de amostra de sangue, 10 ml para tubo de ensaio estéril com citrato de sódio a 3,8% (anticoagulante) por uma profissional de Enfermagem.
- viii. Técnica de obtenção do PRGF segundo protocolo supracitado realizada em simultâneo à cirurgia de extração.
- ix. Após exodontia curetagem cuidada de modo a remover todo o tecido de granulação.
- x. Medição do diâmetro do alvéolo com sonda graduada periodontal no sentido vestibulo-lingual (VL), mesio-distal (MD) e profundidade do alvéolo (PA).
- xi. Aplicação do coágulo de PRGF e sutura.
- xii. Compressão de 5 minutos com compressa estéril e avaliação do sangramento em: espontâneo, induzido por palpação ou ausente.
- xiii. Recomendações exactas pós operatórias.
- xiv. Entrega de questionário para recolha de dados ao paciente, com escala de dor VAAS e tabela para registo do edema facial segundo as medidas F1, F2, F3, e F4.
- xv. Consulta de *follow up* após uma semana, para remoção de sutura, avaliação segundo o *Healing Index* (HI), determinação do volume residual alveolar e recolha do questionário.

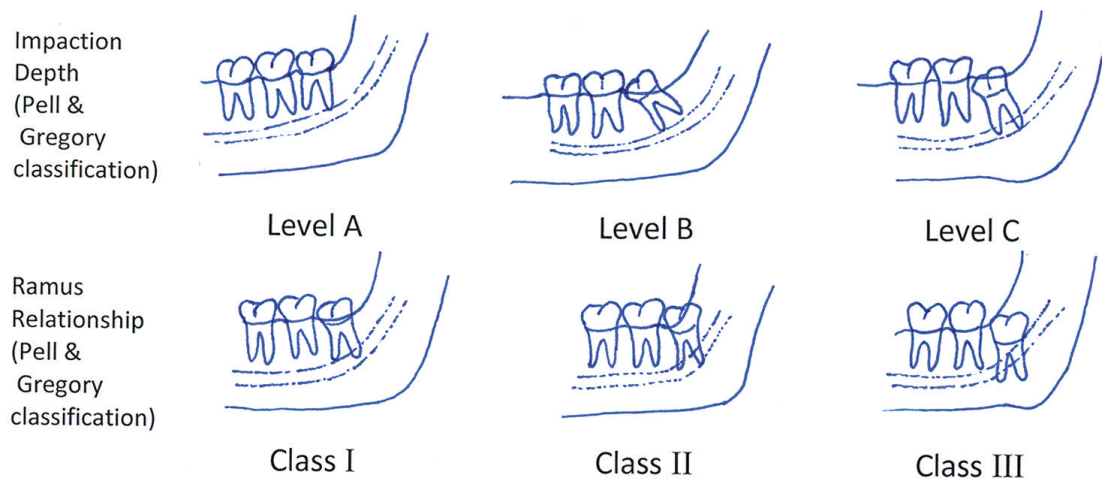


Figura 14 – Classificação de Pell & Gregory (v.)

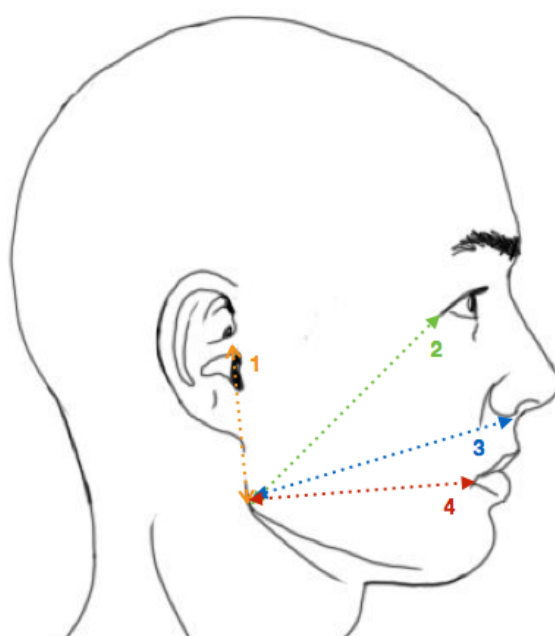


Figura 15 – Medidas faciais F1, F2, F3 e F4, determinadas pela distância entre o ângulo goníaco e 4 pontos faciais (vi., xiv., xv.)

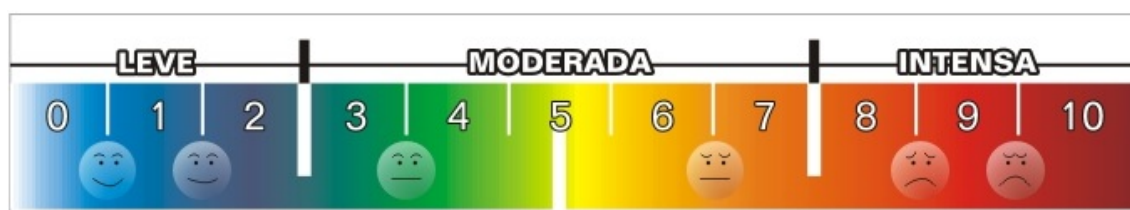


Figura 16 – Escala visual analógica para avaliação de dor (xiv.)

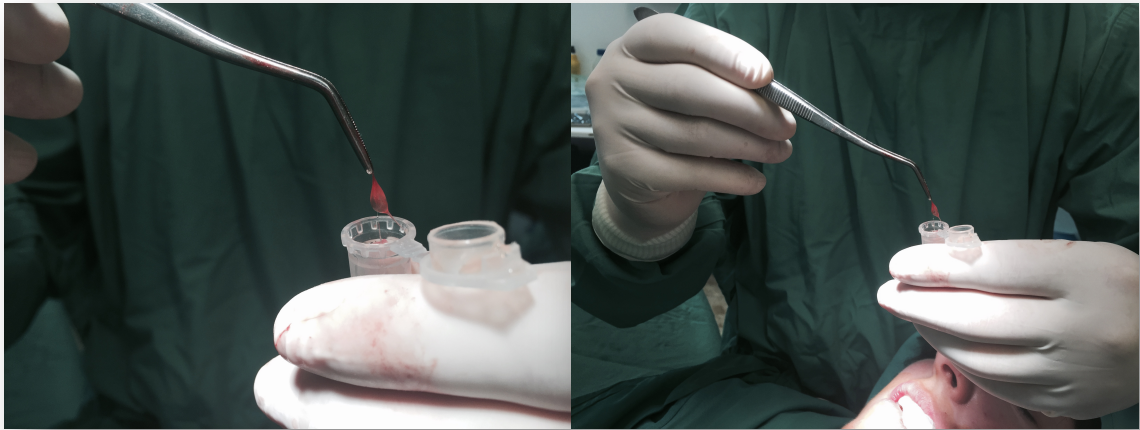


Figura 17 – Aplicação do coagulo PRGF (xi.)

De modo a avaliar os resultados obtidos e determinar a eficácia da técnica do PRGF, foram observados diversos parâmetros como: o volume residual do alvéolo, medindo o seu diâmetro vestibulo-lingual (VL), diâmetro mesio-distal (MD) e profundidade do alvéolo (PA); uma escala analógica visual para a avaliação da dor; uma medição facial para determinação do edema facial e o *Healing Index* (HI).

O volume residual alveolar foi mensurado imediatamente após a exodontia e novamente como termo de comparação na consulta de *follow up* ao 7º dia.

Para a avaliação da dor foi solicitado ao paciente que registasse a dor experienciada num período pós-extração, tendo como referência uma escala analógica visual de 0 a 10, onde 0 representa a ausência de dor e 10 a pior dor possível. Foi requerido ao paciente que registasse em casa, num inquérito próprio, a dor sentida mantendo um horário consensual de registo. Os pacientes tinham como indicação registar o primeiro valor 2h após a extração, desde o dia da cirurgia até à consulta de *follow up*. De forma a avaliar o edema facial pós-operatório foi igualmente requisitado ao paciente que, através de uma régua flexível, recriasse a medição efectuada previamente à cirurgia – controlo, e efectuasse o registo das suas medidas faciais no inquérito mencionado anteriormente. As medições foram efectuadas desde o 1º dia após a cirurgia até ao 6º dia após a mesma.

As medidas faciais foram determinadas, conforme a figura 15 indica, pela distância entre o ângulo goníaco e 4 pontos faciais:

1. Tragus da orelha
2. Canto externo do olho
3. Espinha nasal
4. Comissura labial

O HI, avaliado na consulta de *follow up*, consiste num índice de avaliação da maturação e qualidade da regeneração dos tecidos, resultando numa escala de 4 a 12, sendo 4 uma excelente regeneração e 12 uma pobre regeneração. Esta escala avalia 3 scores para 4 parâmetros:

Coloração

1. 100% gengiva rosa
2. <50% gengiva vermelha, hiperêmica e móvel
3. >50% gengiva vermelha, hiperêmica e móvel

Coloração e consistência

1. Granulado, rosa
2. Macia, vermelha
3. Frágil, acinzentado

Supuração

1. Ausente
2. Ausente mas com bastante placa no local
3. Pronunciada

Sangramento

1. Ausente
2. Induzido por palpação
3. Espontâneo

Para a análise estatística foram empregues, o teste T-student para as variáveis contínuas com distribuição normal, o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas independentes, utilizando o software de estatística IBM-SPSS, sendo as diferenças consideradas estatisticamente significativas para uma probabilidade superior a 95% ($p < 0,05$).

III. RESULTADOS

As diferentes variáveis desta investigação foram analisadas primariamente sobre a forma de gráficos sendo depois estudadas através de análise estatística.

I.DOR PÓS-OPERATÓRIA

Segundo uma escala visual analógica fornecida aos pacientes, a dor sentida no período pós-operatório foi registada num inquérito próprio, variando os valores de 0 a 10, sendo 0 indolor e 10 dor máxima.

De acordo com os dados recolhidos 45% dos pacientes sentiu uma dor inferior, no primeiro dia após a cirurgia, quando utilizada a técnica do PRGF, sendo que para os restantes 55% dos pacientes não existiram diferenças entre as técnicas utilizadas. A maior disparidade de valores foi sentida por um paciente, com o valor três vezes inferior correspondente à utilização de PRGF. Dados demonstrados na figura 18.

No segundo dia a percentagem de pacientes que sentiu menor dor quando utilizada a técnica do PRGF aumentou de 45% para 65%. Os restantes 35% dos pacientes não manifestaram qualquer alteração na dor sentida perante as duas técnicas utilizadas. A maior diferença de valores foi sentida por dois pacientes que revelaram um nível de dor inferior em 3 unidades quando utilizada a técnica do PRGF. Dados demonstrados na figura 19.

A percentagem de pacientes cuja dor sentida no terceiro dia após a cirurgia foi semelhante ao do primeiro, na medida em que 45% dos pacientes revelou valores inferiores quando utilizado o PRGF e os restantes 55% dos pacientes exprimiram a ausência de diferenças. A discrepância mais elevada foi de 4 unidades, sentida por um paciente em que o valor inferior correspondeu à cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 20.

No quarto dia a percentagem de pacientes que sentiu menor dor quando utilizada o PRGF foi de 45%, 50% não demonstraram qualquer diferença e 5% revelou menor dor após a cirurgia de controlo. Conferiu-se que a maior divergência foi de 3 valores sentida por dois pacientes, onde o valor inferior correspondeu ao Grupo PRGF. Dados demonstrados na figura 21.

A dor pós-operatória sentida no quinto dia foi para 40% dos pacientes inferior quando utilizado o PRGF, para 50% não existiram diferenças e os restantes 10% divulgaram menor dor após a cirurgia de controlo. A maior discrepância de valores foi sentida por um paciente em cerca de 3 unidades, com o valor inferior correspondente ao PRGF. Dados demonstrados na figura 22.

No sexto dia 50% dos pacientes manifestaram menor dor perante a cirurgia com PRGF, 45% não demonstraram qualquer diferença e 5% revelaram menor dor após a cirurgia de controlo. Foi verificada uma maior disparidade de 3 valores por um paciente onde o valor inferior correspondeu ao pós-operatório com PRGF. Dados demonstrados na figura 23.

Ao sétimo dia 50% dos pacientes declararam ter menor dor após a cirurgia com PRGF, e os restantes 50% não demonstraram quaisquer diferenças. Constatou-se uma maior divergência de 3 valores sentida por uma paciente, na medida em que o valor inferior correspondeu ao PRGF. Dados demonstrados na figura 24.

Segundo a figura 25 onde são analisados os dados referentes aos gráficos supracitados, pode-se concluir que, neste estudo o valor médio de dor experienciada pelos pacientes foi sempre inferior quando introduzida a técnica do PRGF na cirurgia. Conforme o previsto, os valores de dor manifestaram uma tendência decrescente com o avançar do tempo, sendo que a dor máxima sentida pelos pacientes ocorreu geralmente no 2º dia de pós-operatório.

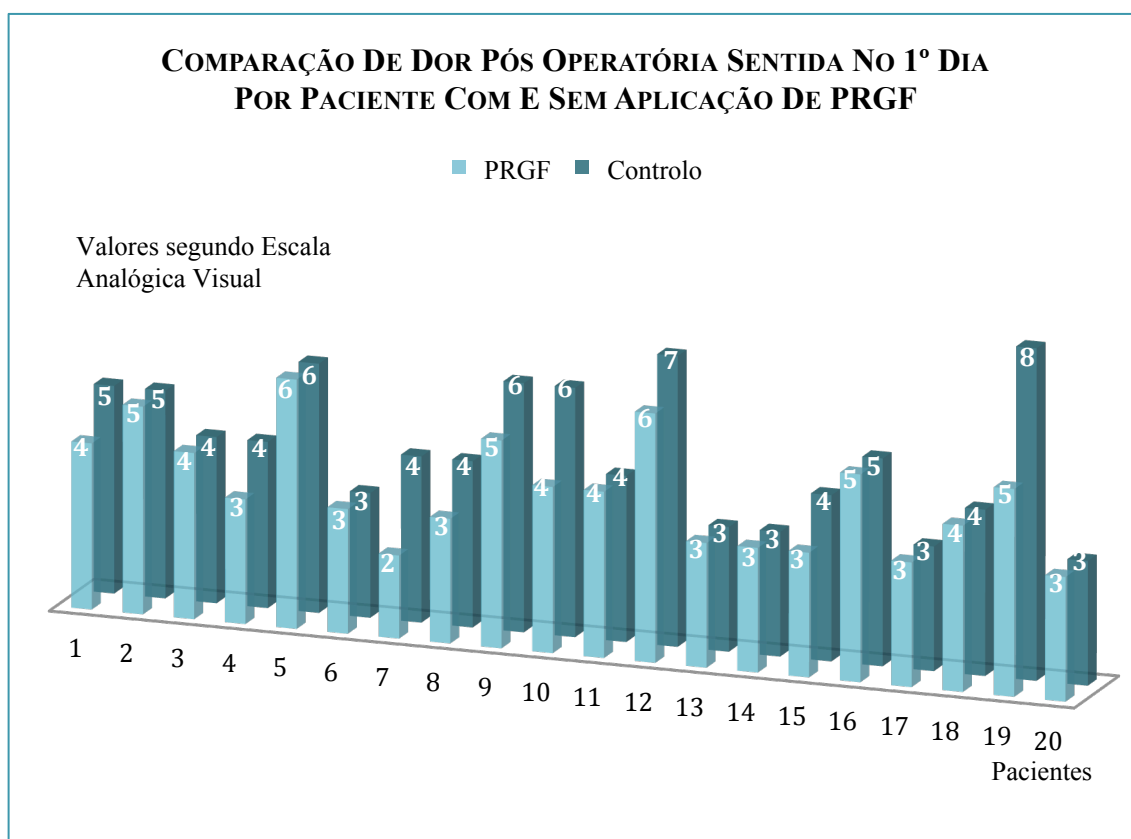


Figura 18 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

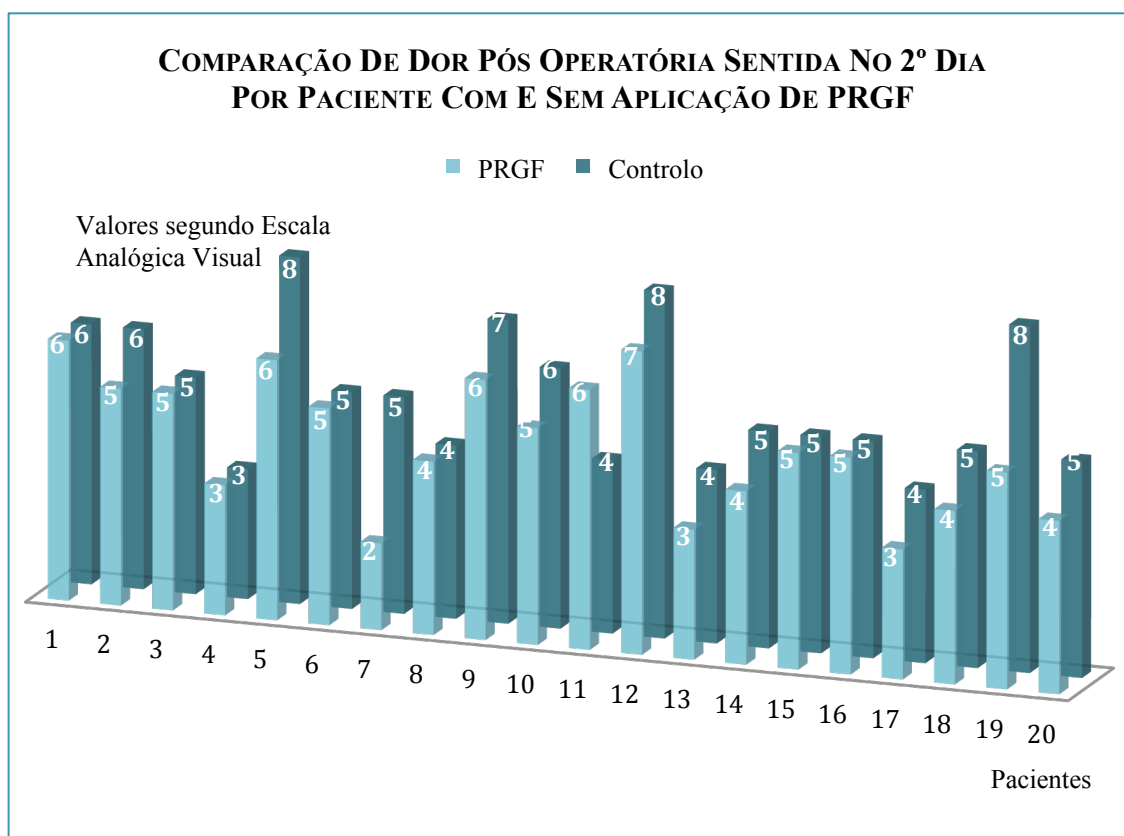


Figura 19– Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

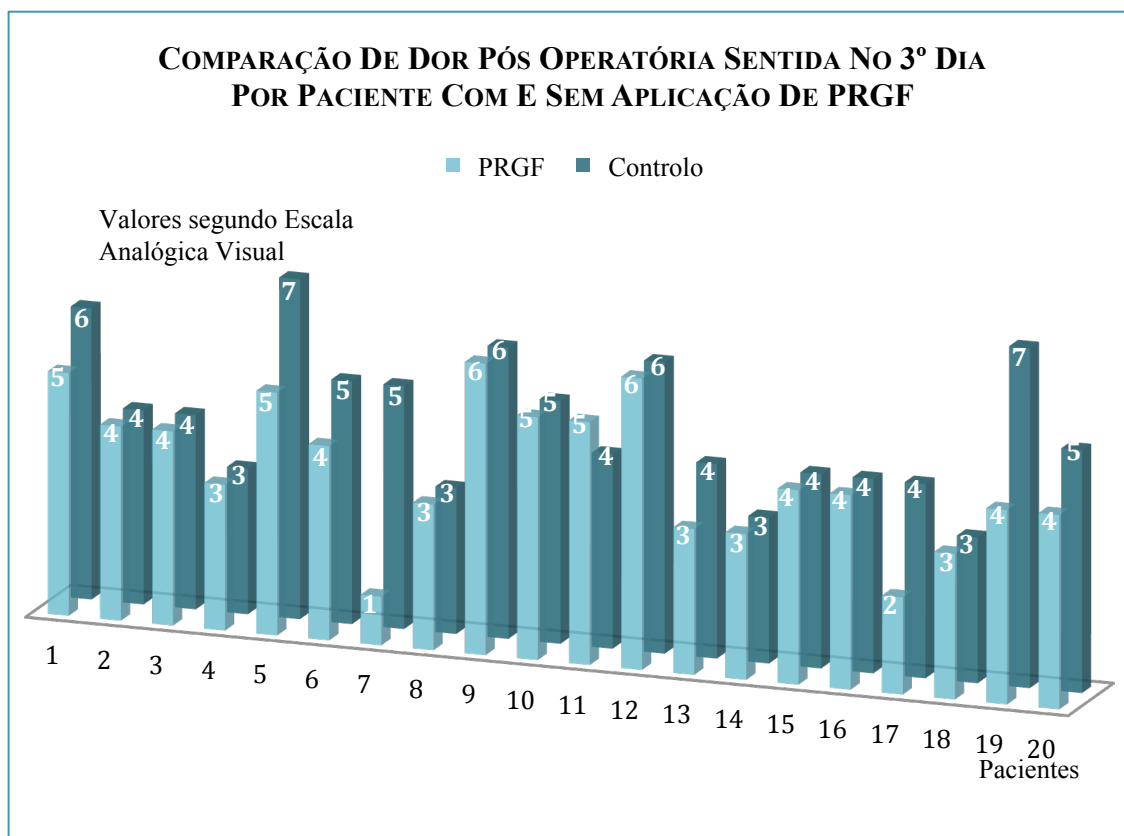


Figura 20 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

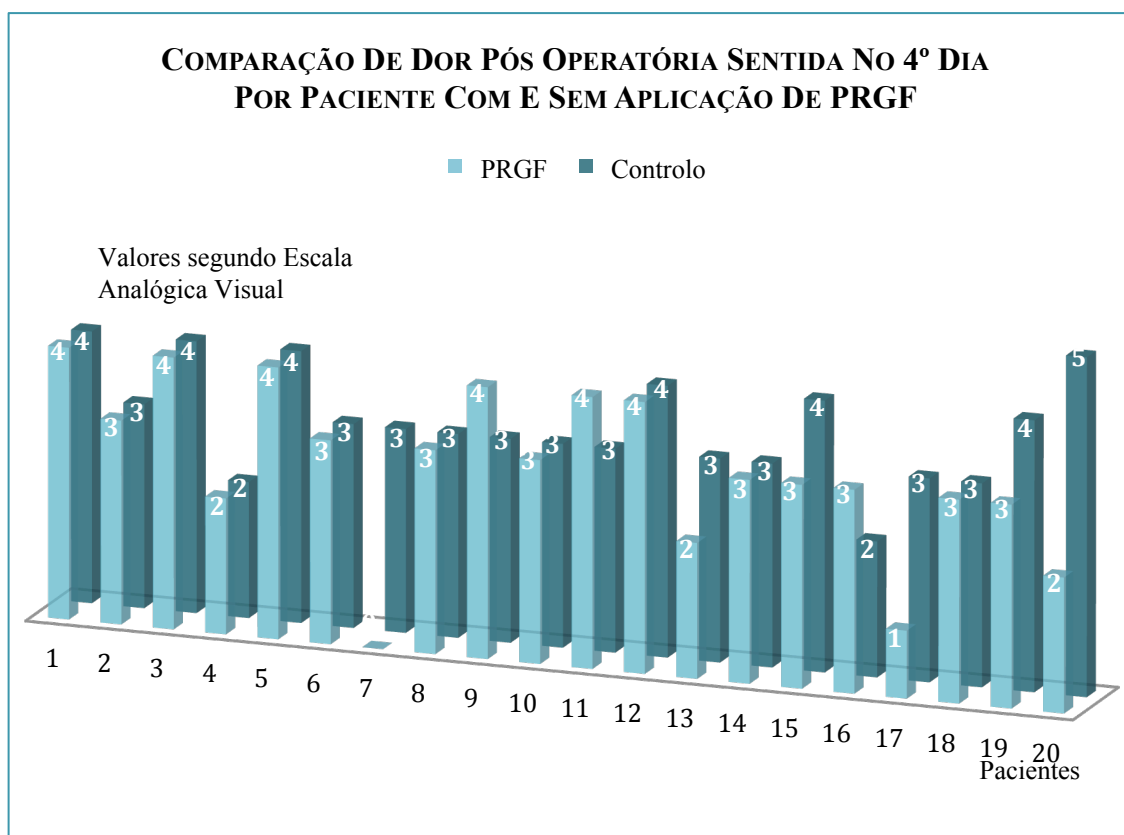


Figura 21 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

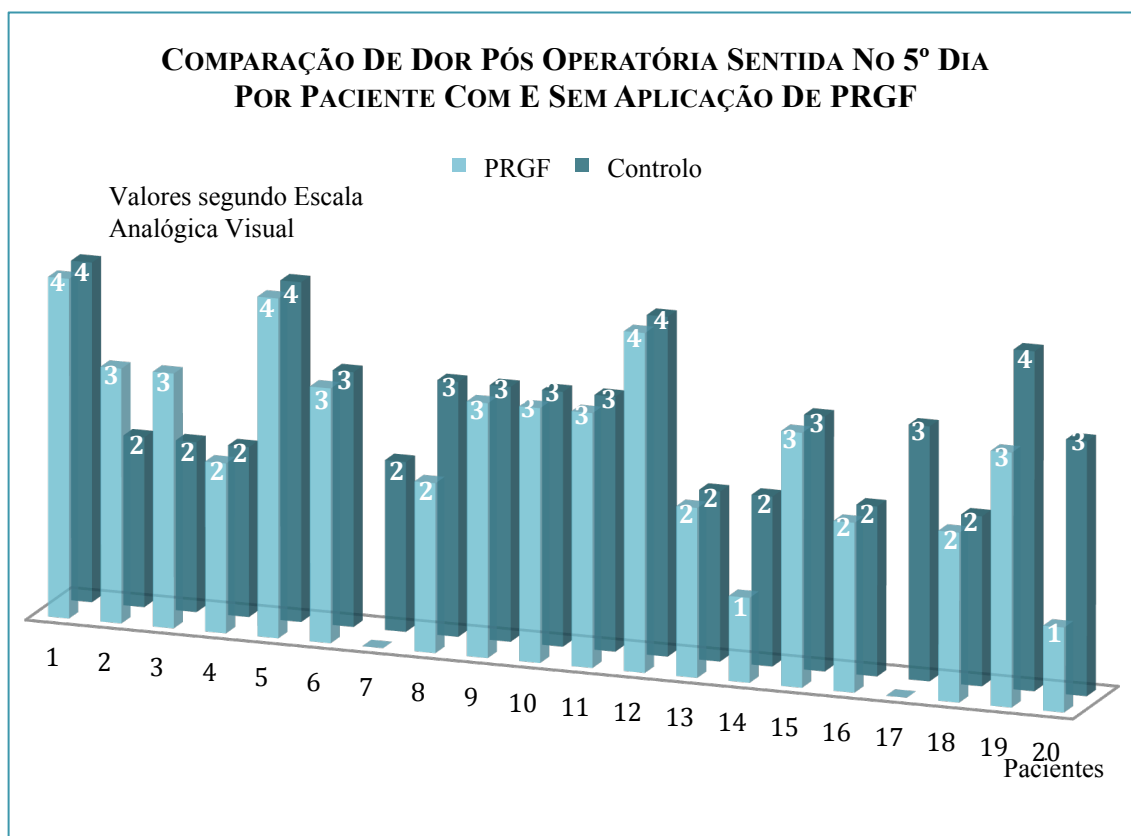


Figura 22 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

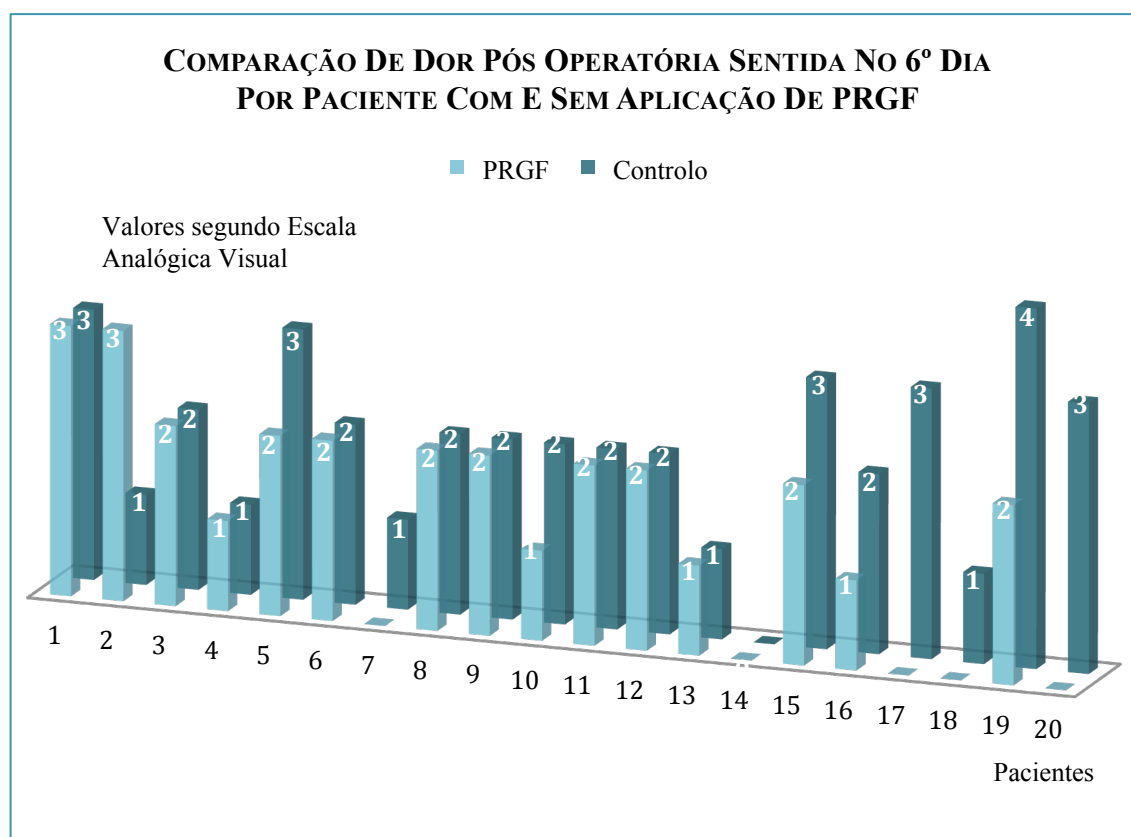


Figura 23 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

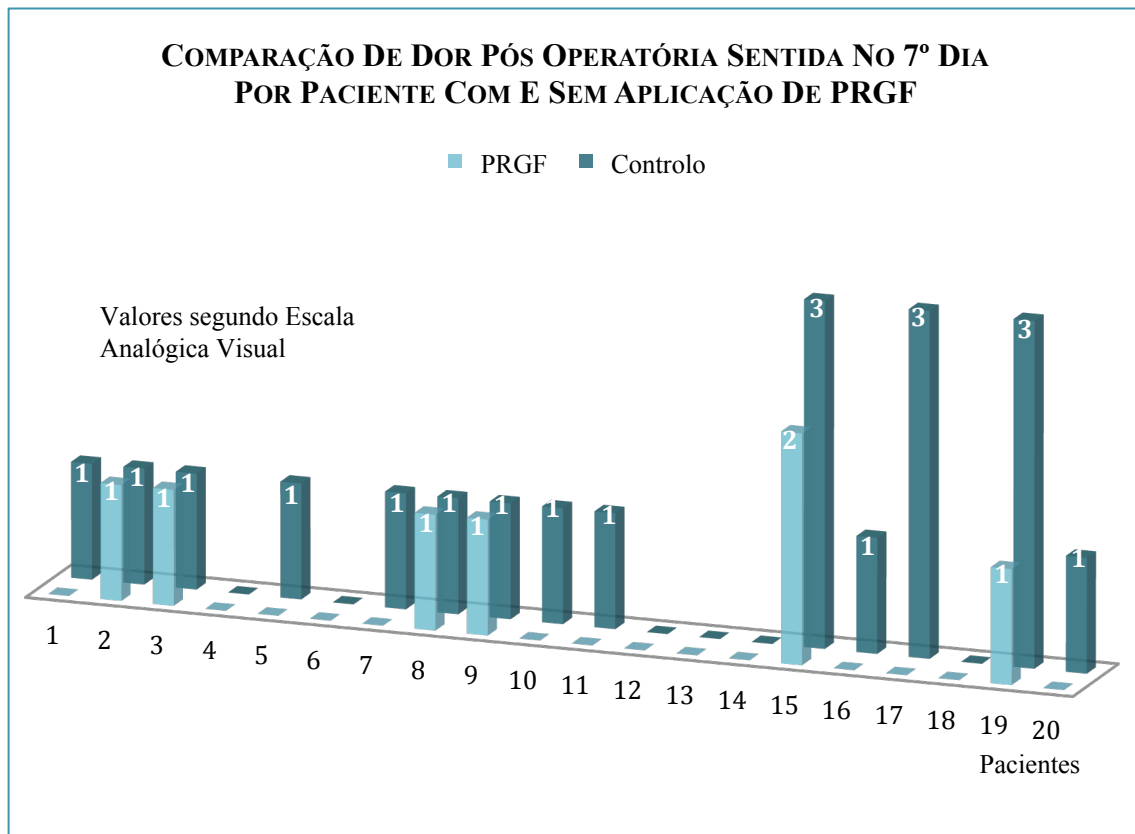


Figura 24 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

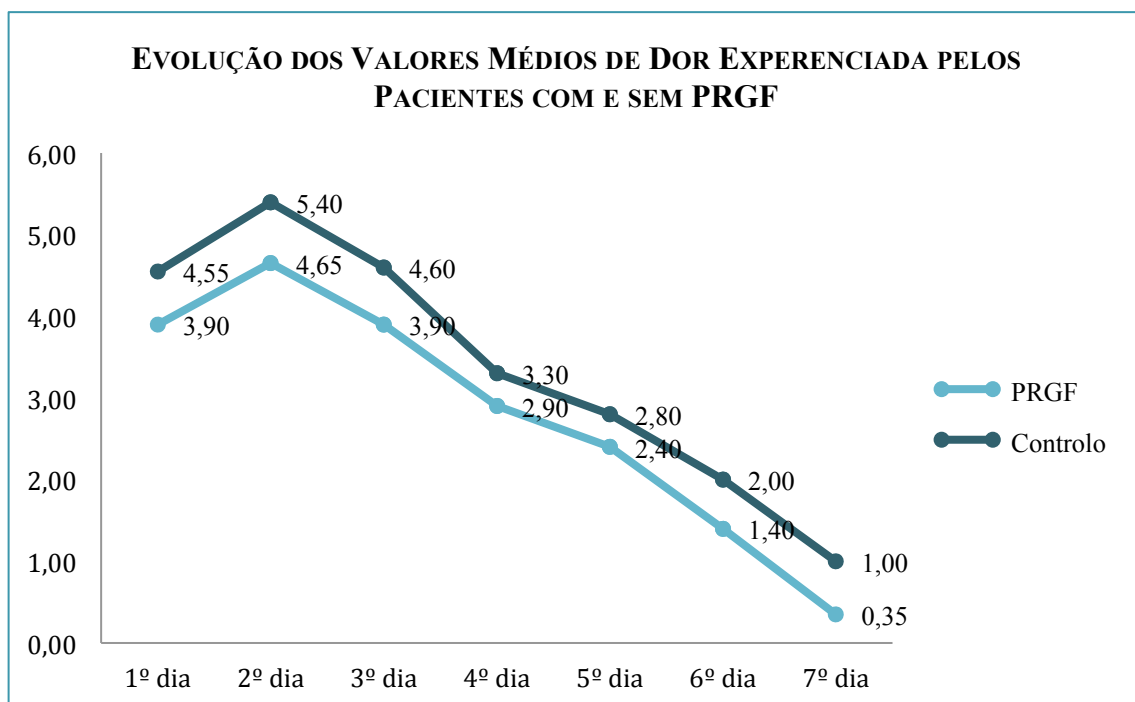


Figura 25 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

2. EDEMA PÓS-OPERATÓRIO

O edema pós operatório foi registado por cada paciente resultando em 4 medidas chave: F1, distância entre o ângulo goníaco e tragus da orelha; F2, distância entre ângulo goníaco e canto externo do olho; F3, distância entre ângulo goníaco e espinha nasal e F4, distância entre ângulo goníaco e comissura labial.

2.1 EDEMA PÓS-OPERATÓRIO F1

Em relação à medida F1, no segundo dia após a cirurgia, 40% dos pacientes tiveram um menor edema após a cirurgia com PRGF, para 50% não ocorreu diferença entre as duas cirurgias, e os restantes 10% dos pacientes sofreram menor edema após a cirurgia de controlo. A maior discrepância foi sentida por um paciente onde se constatou um edema inferior em 3 centímetros após a cirurgia com o PRGF comparativamente à cirurgia de controlo. Dados demonstrados na figura 26.

De acordo com os dados recolhidos no terceiro dia após a exodontia com PRGF em 60% dos pacientes ocorreu um menor edema, para 35% não existiram diferenças, e para 5% o edema foi menor após a cirurgia de controlo. A maior disparidade foi sentida por um paciente no valor de 3,5cm, correspondendo o valor inferior à cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 27.

Para 45% dos pacientes o edema foi menor no quarto dia após a cirurgia com PRGF, 50% não relataram diferenças e para os restantes 5% o edema foi menor no grupo de controlo. A maior discrepância foi de 4,5cm, em que o valor inferior correspondeu ao edema do paciente após a cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 28.

No quinto dia após a cirurgia, 55% dos pacientes sentiram um edema inferior após a utilização de PRGF na exodontia, para os restantes 45% não existiram diferenças. A divergência maior foi no valor de 4cm, correspondendo o menor edema sentido pelo paciente à cirurgia com o PRGF. Dados demonstrados na figura 29.

O edema F1 sentido no sexto dia foi para 25% dos pacientes inferior após a exodontia com PRGF e para os restantes 75% não existiram diferenças. Um paciente descreveu a maior disparidade de valores após as duas cirurgias, onde o valor inferior em 4cm correspondeu ao pós-operatório da cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 30.

De acordo com a figura 31, onde podemos analisar a comparação da média dos resultados descritos pelos pacientes ao longo dos seis dias, podemos concluir que os valores de edema F1, correspondentes ao período pós operatório da cirurgia com PRGF, foram inferiores em relação aos valores após a cirurgia de controlo. O pico máximo de edema ocorreu no terceiro dia após as cirurgias e como expectável os valores demonstraram uma tendência decrescente ao longo dos dias.

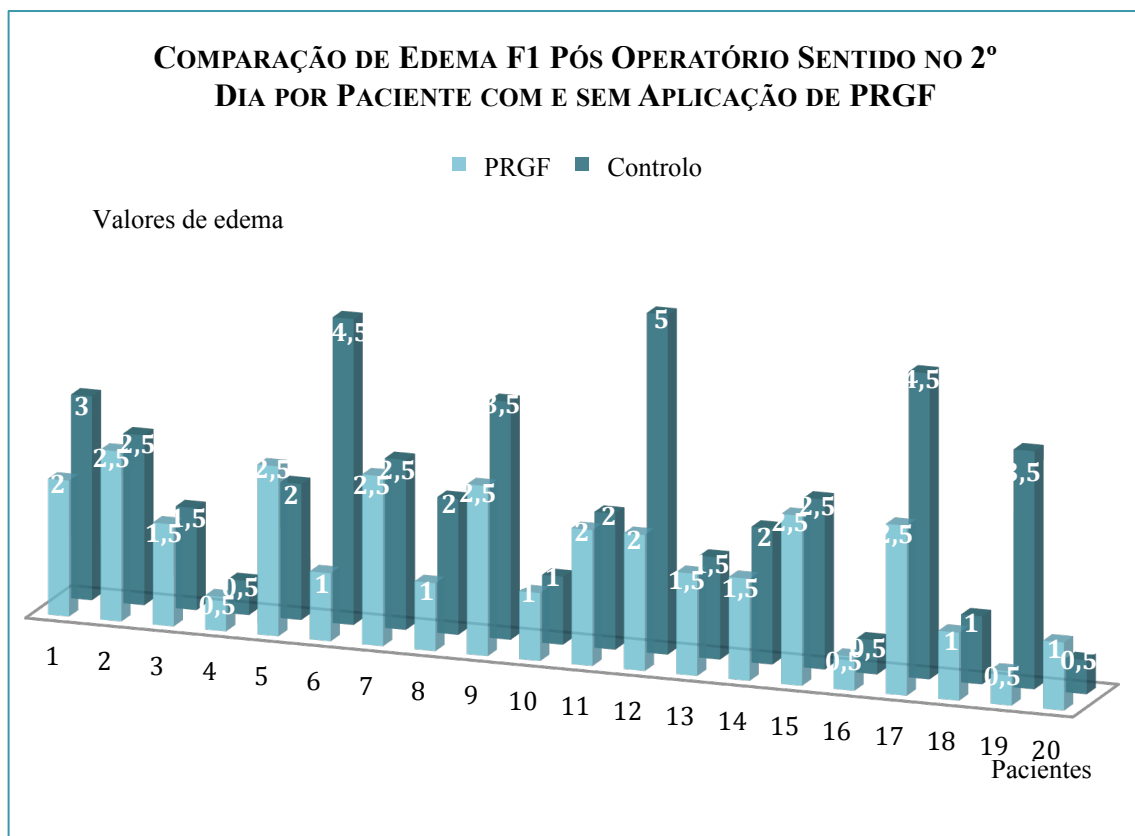


Figura 26 – Gráfico comparativo de dor pós-operatória.

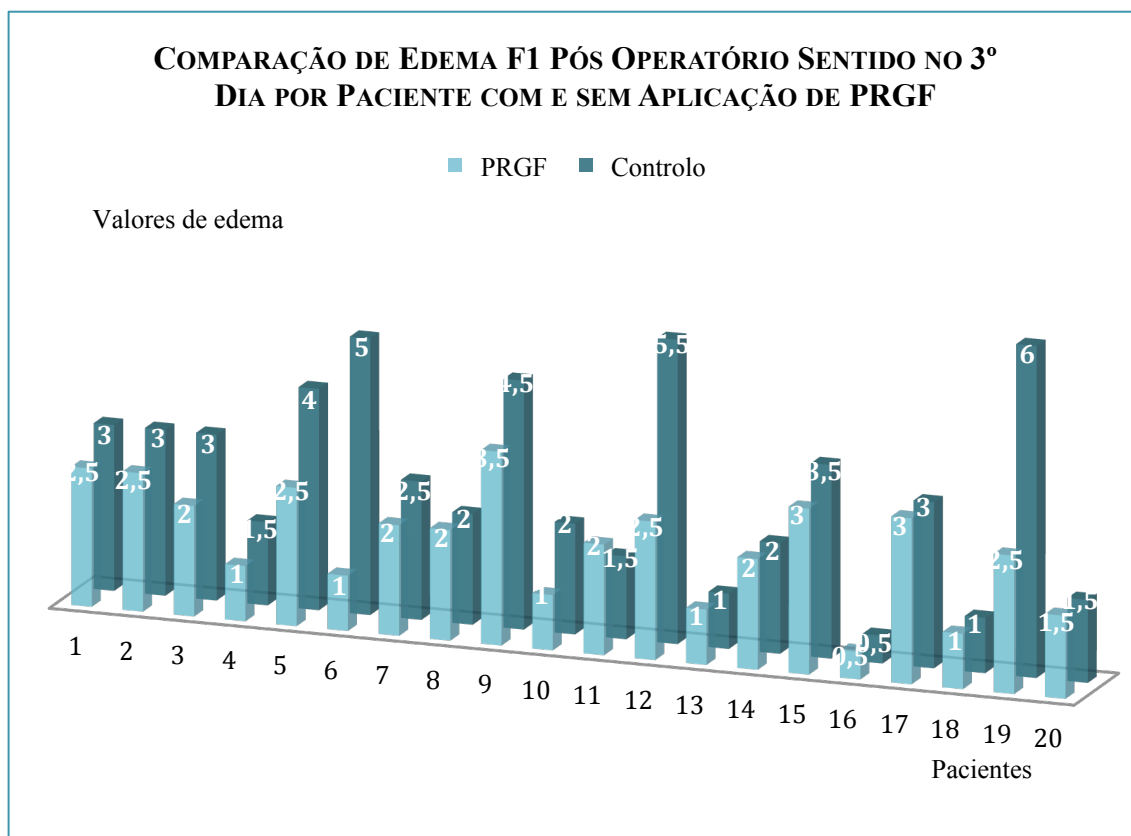


Figura 27 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

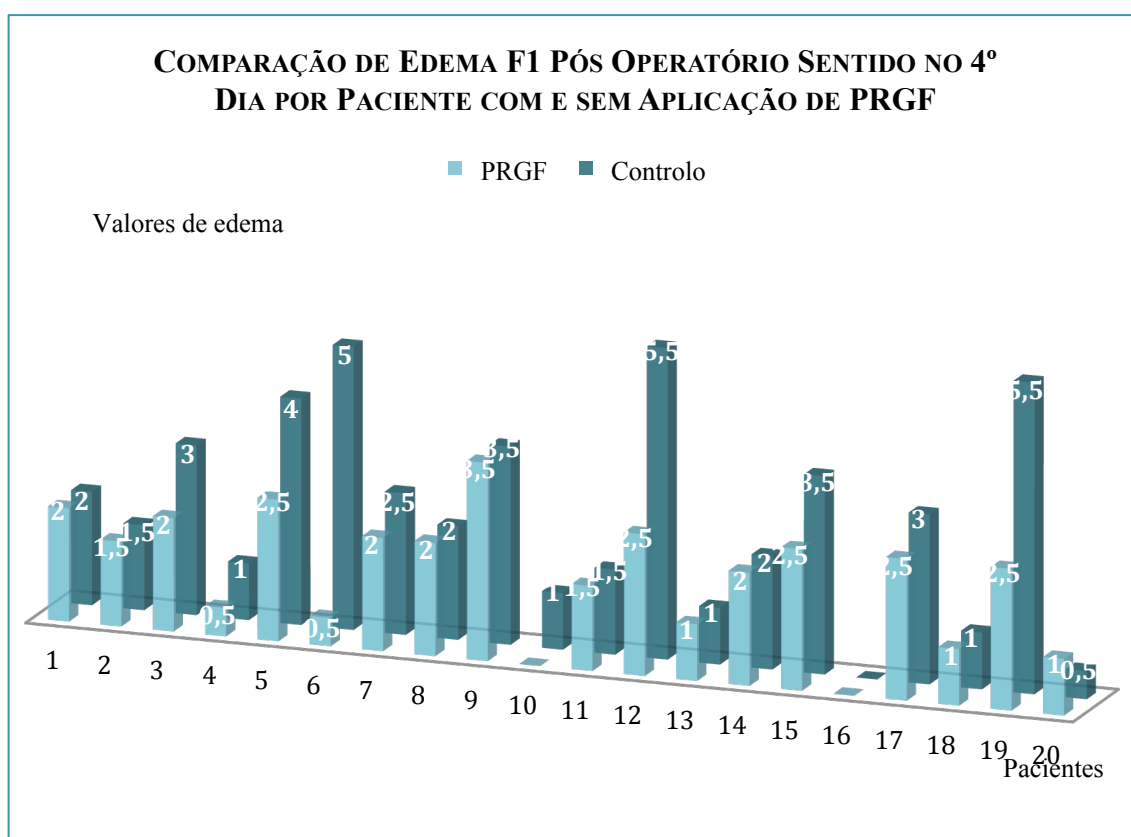


Figura 28 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

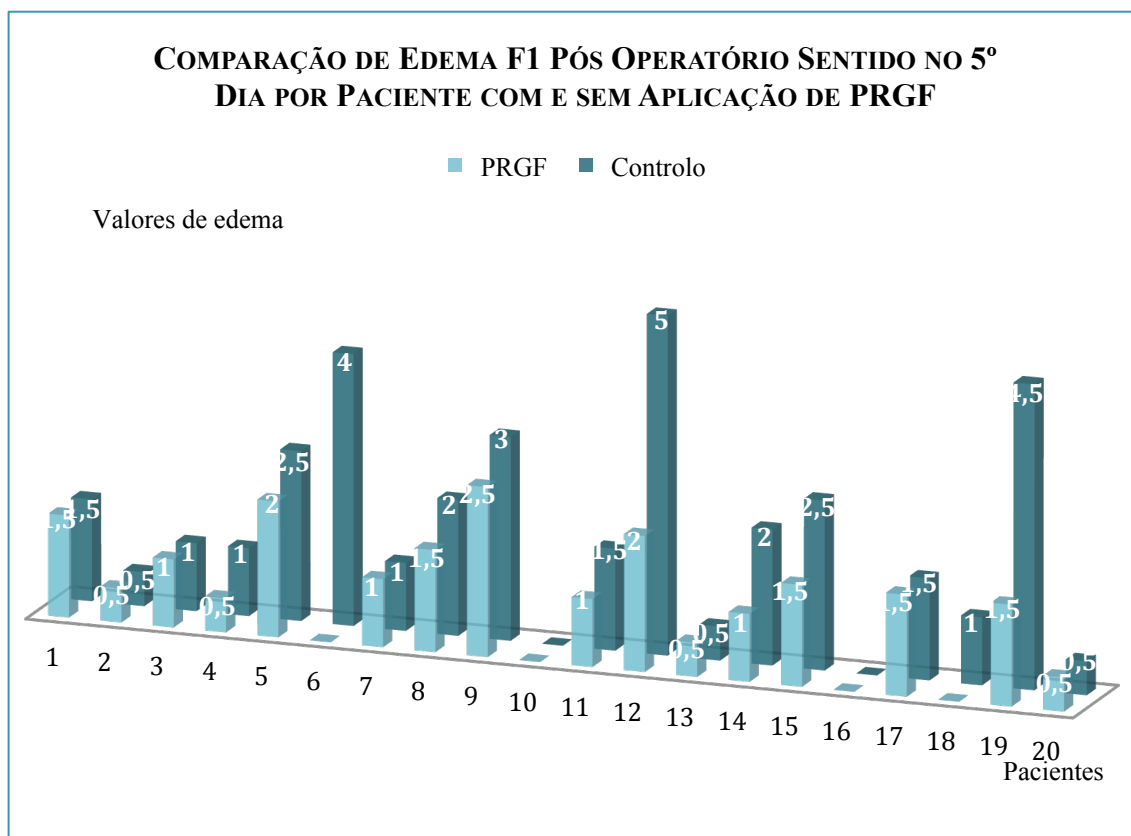


Figura 29 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

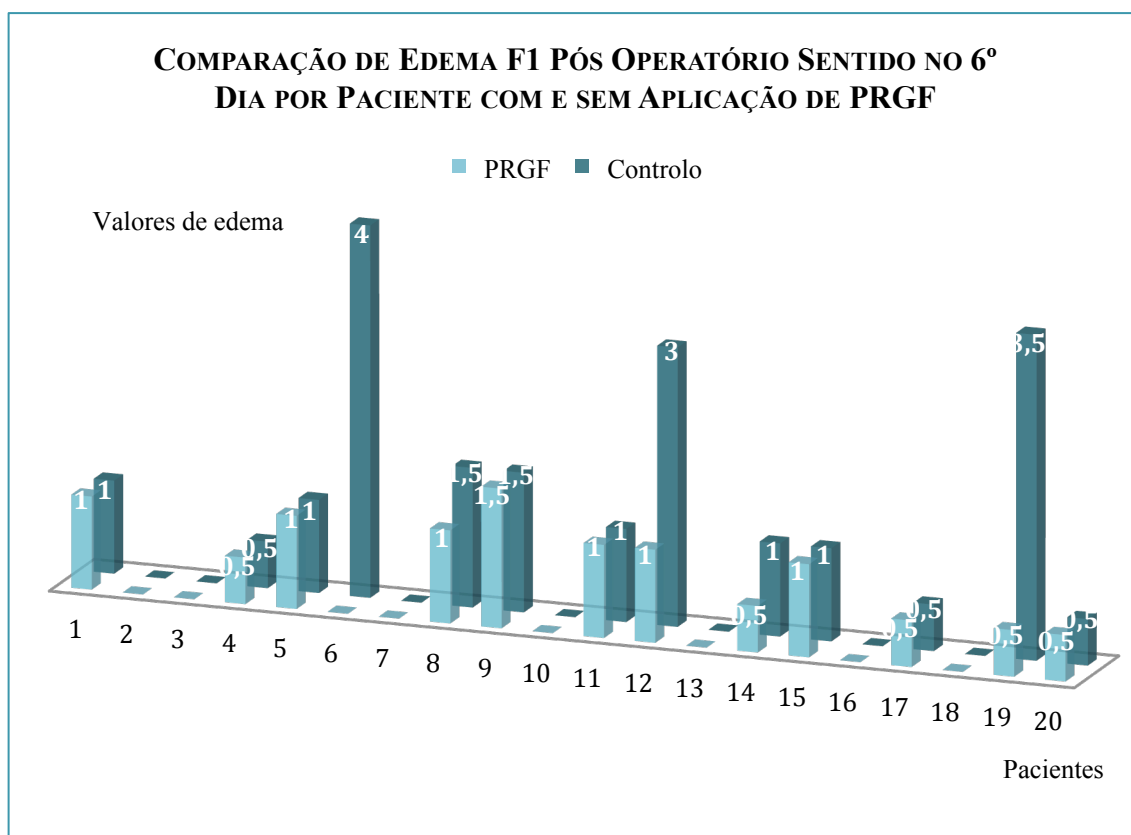


Figura 30 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

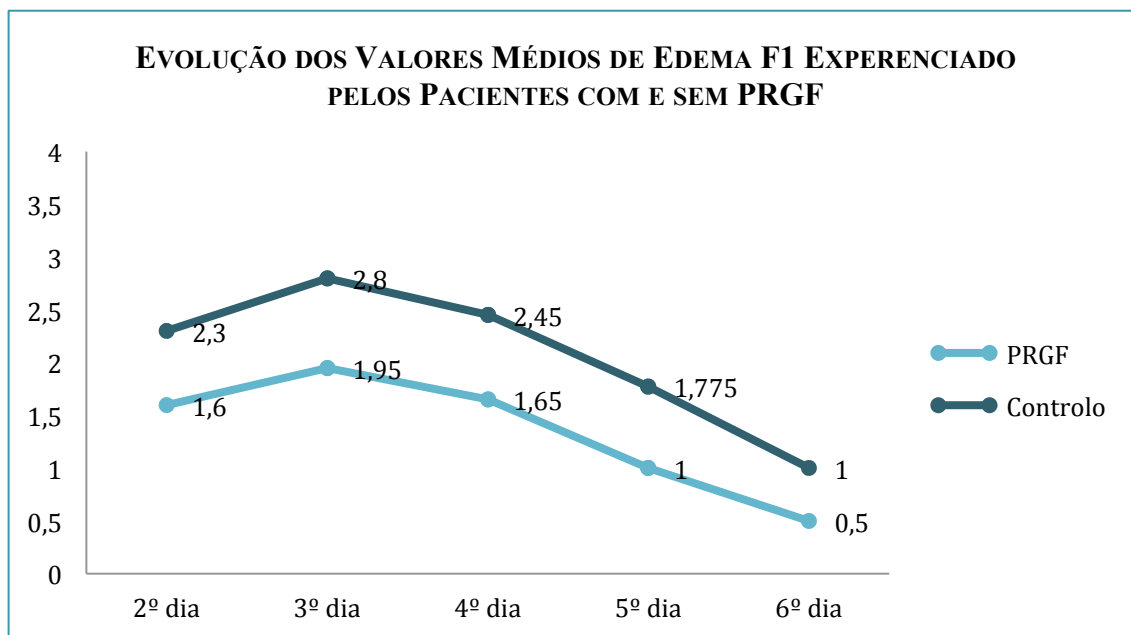


Figura 31 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

2.2 EDEMA PÓS OPERATÓRIO F2

Em relação ao edema da medida F2, 60% dos pacientes sentiram, no segundo dia de pós-operatório, um edema inferior após a utilização de PRGF na cirurgia de extração, sendo que para os restantes 40% não existiram diferenças. A maior divergência de valores foi descrita por um paciente, tendo sentido um edema inferior em 3cm após a exodontia com PRGF. Dados demonstrados na figura 32.

No terceiro dia após a cirurgia, 35% dos pacientes descreveram um menor edema após a cirurgia com PRGF, para 50% não existiram diferenças e os restantes 15% sentiram um edema inferior após a cirurgia de controlo. Em relação às disparidades de valores, dois pacientes relataram uma diferença de 2,5cm onde o valor inferior correspondeu ao pós-operatório do grupo PRGF. Dados demonstrados na figura 33.

45% dos pacientes referiram, no quarto dia, um edema inferior após a cirurgia com PRGF, para 50% não ocorreram diferenças e para os restantes 5% o edema foi menor após a cirurgia de controlo. Dos 20 pacientes observados a maior discrepância no edema entre as duas cirurgias foi de 3cm, sendo que o valor inferior ocorreu após a cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 34.

No quinto dia de pós operatório 60% dos pacientes descreveram um edema inferior no decorrer da cirurgia com PRGF e os restantes 40% não sentiram diferenças no edema entre as duas cirurgias. Ao analisar os dados podemos constatar que a maior divergência de valores entre as duas cirurgias foi, sentida por um paciente, no valor de 2,5cm, em que o menor edema correspondeu à cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 35.

O edema F2 descrito no sexto dia foi inferior após a cirurgia com PRGF para 30% dos pacientes e para os restantes 70% não existiram diferenças no edema após as duas cirurgias. A maior disparidade de valores entre as duas cirurgias foi de 1,5cm, sentida por um paciente, sendo que o valor inferior correspondeu ao período pós-operatório do grupo PRGF. Dados demonstrados na figura 36.

Ao analisarmos os dados dispostos na figura 37, que nos traduz a média dos resultados supramencionados referentes à medida F2, podemos constatar que os pacientes sentiram, em média, um edema menor após a utilização de PRGF do que na cirurgia de controlo. Os valores demonstraram, assim como os anteriores, uma tendência decrescente ao longo do tempo e o pico máximo de edema sentido ocorreu no terceiro dia de pós operatório em concordância com o edema F1.

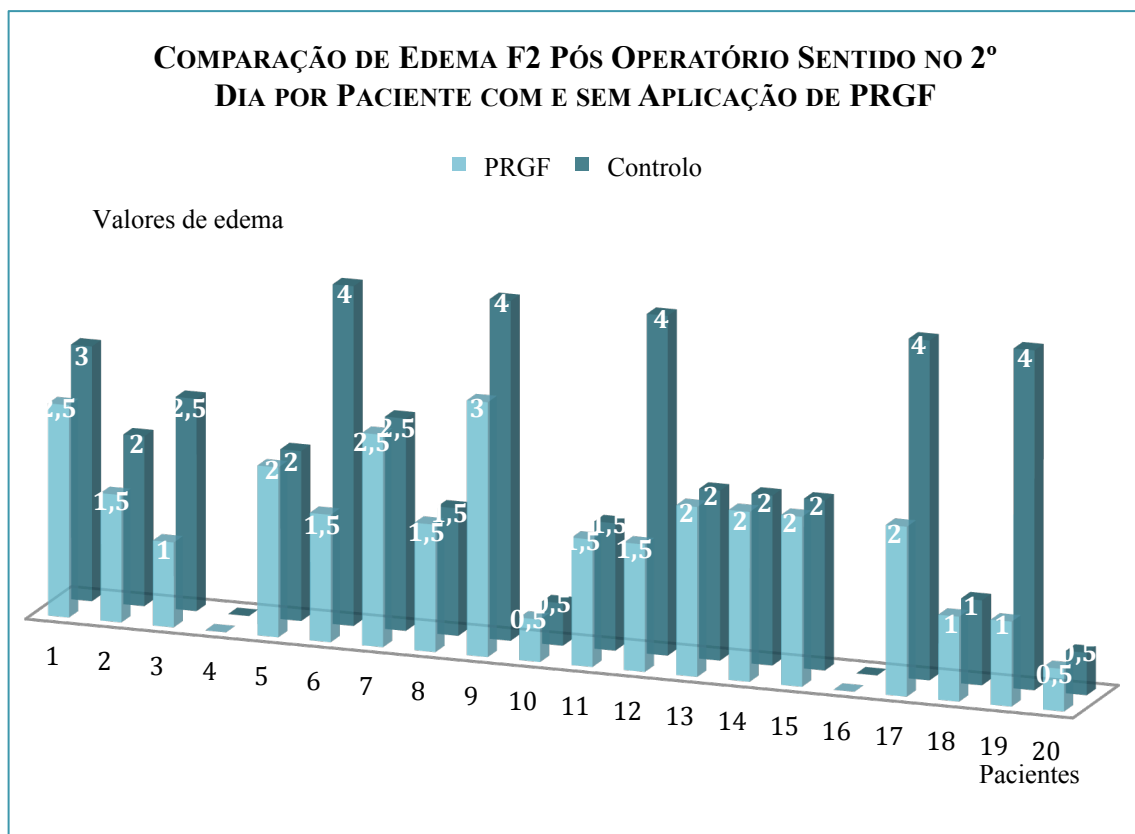


Figura 32 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

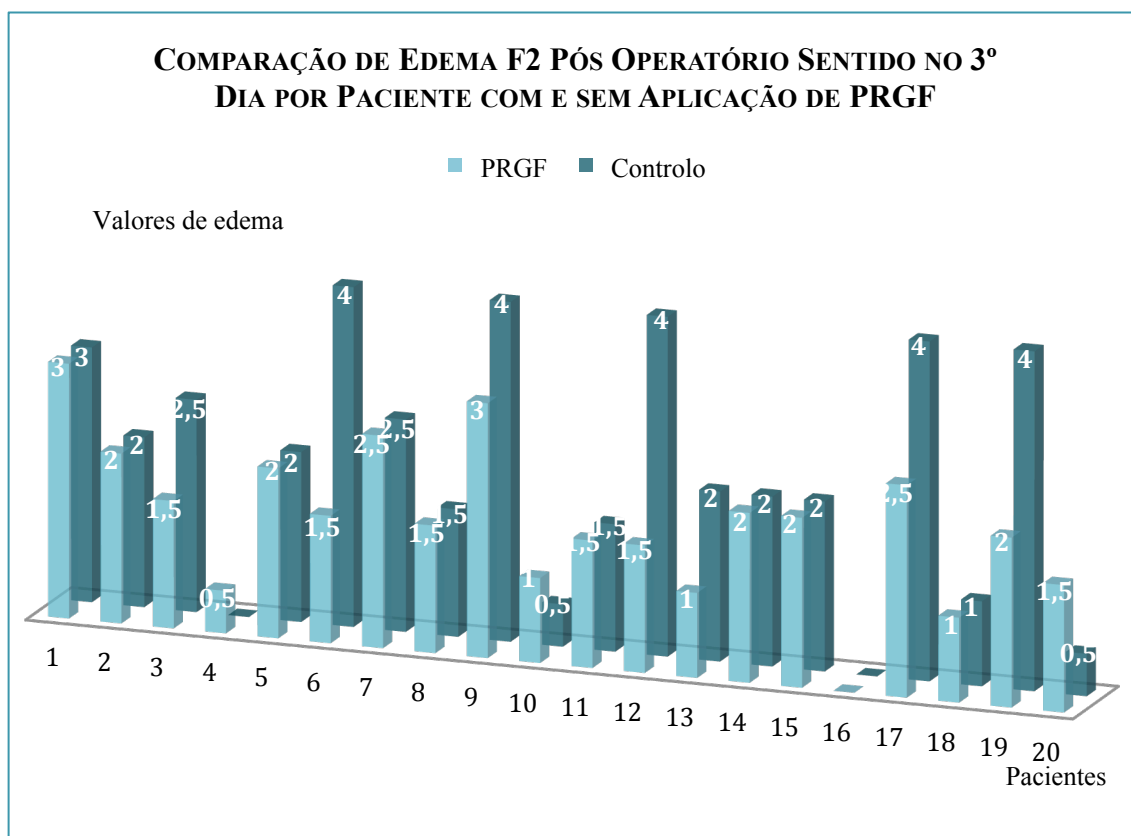


Figura 33 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

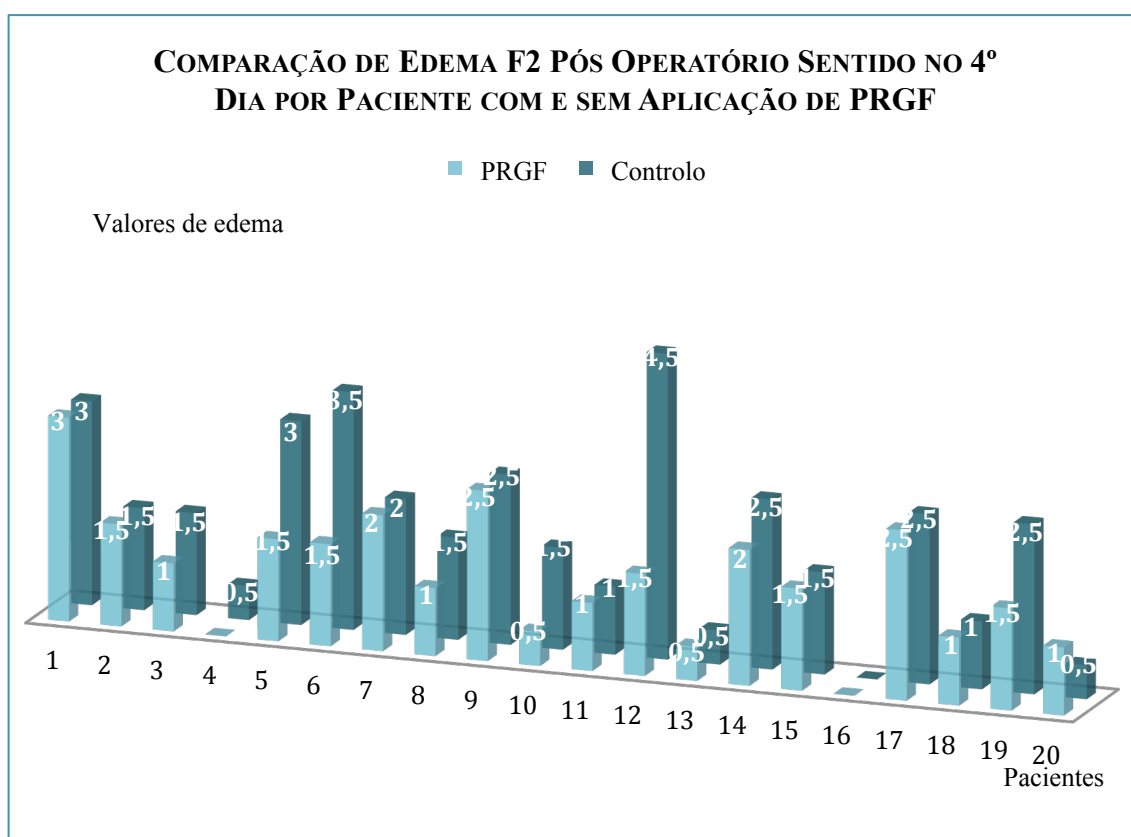


Figura 34 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

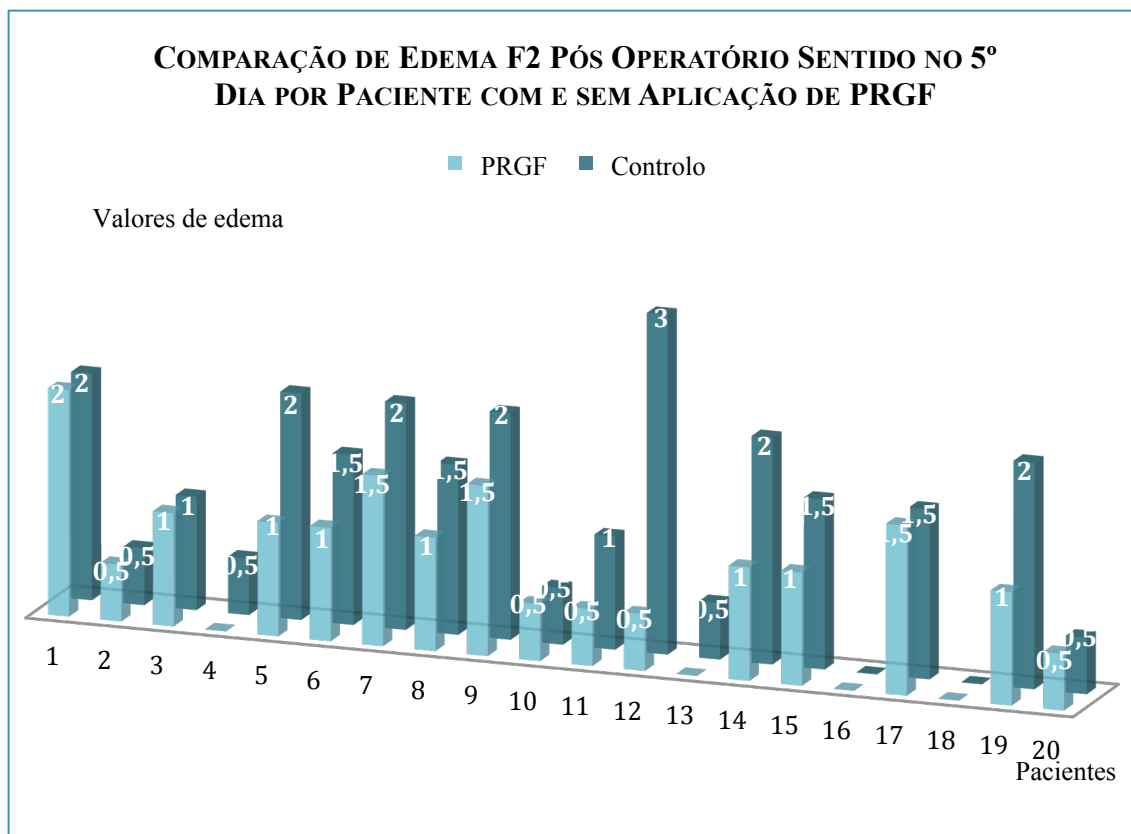


Figura 35 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

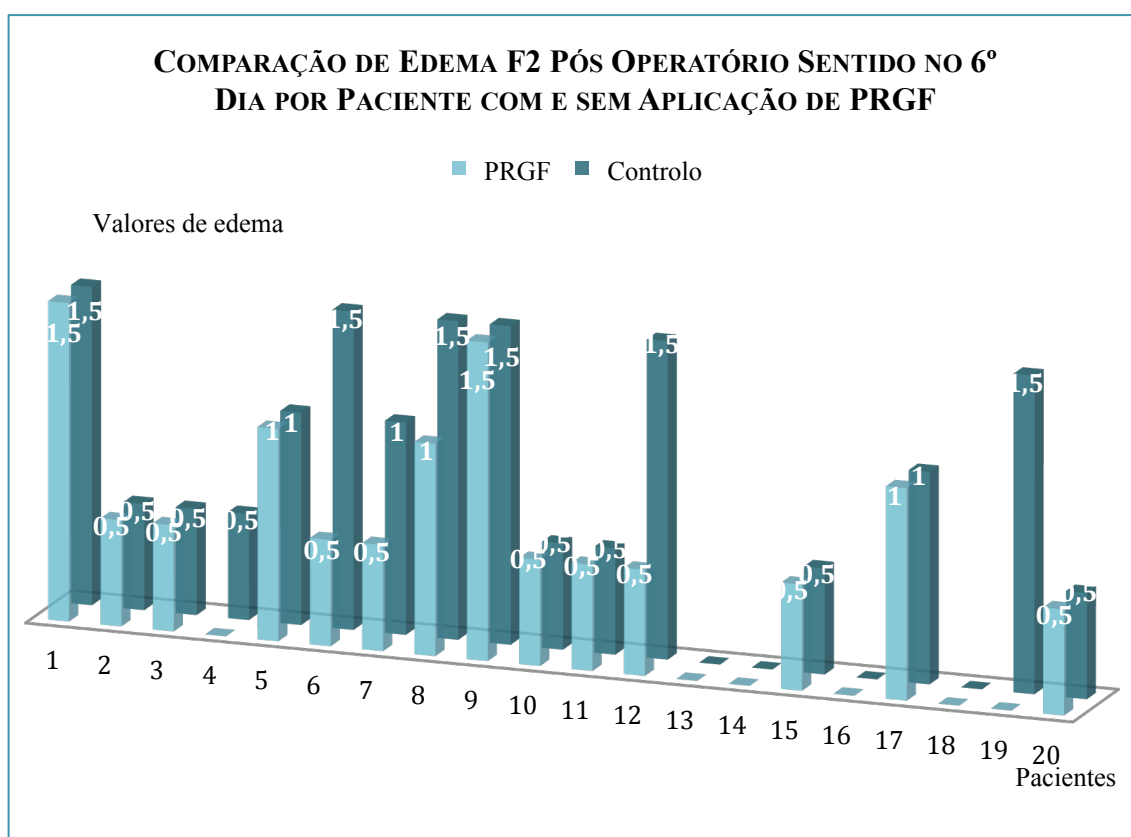


Figura 36 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

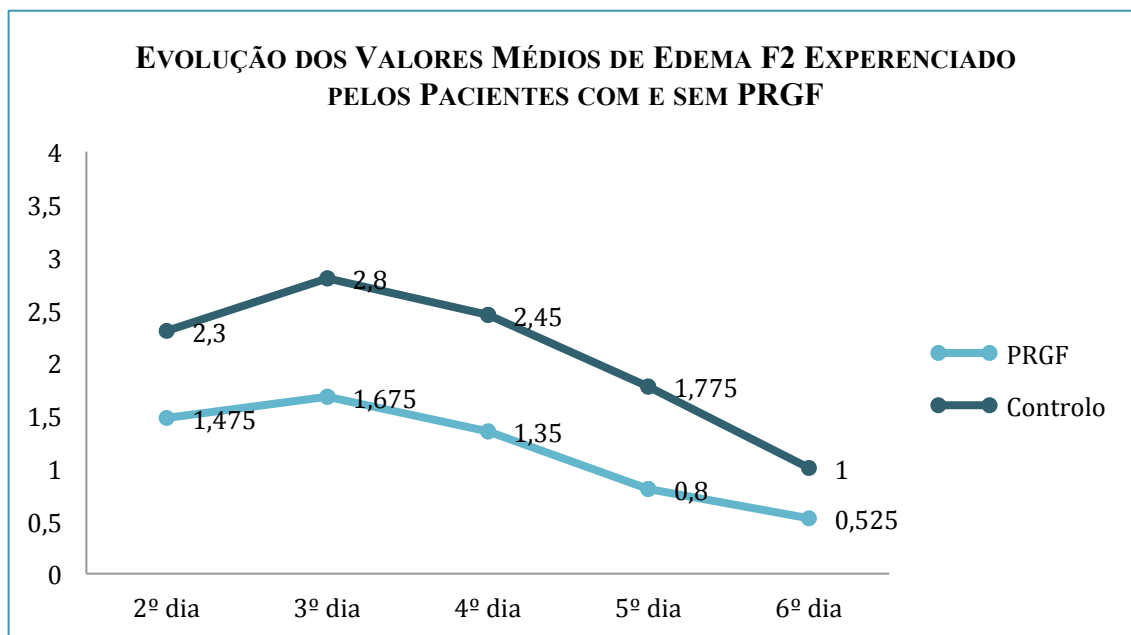


Figura 37 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

2.3 EDEMA PÓS OPERATÓRIO F3

Em relação à medida F3, no segundo dia após a cirurgia, 40% dos pacientes tiveram um menor edema após a cirurgia, para 55% não decorreram diferenças entre as duas cirurgias, e os restantes 5% dos pacientes constataram um menor edema após a cirurgia de controlo. A maior discrepância foi descrita por um paciente, na qual relatou um edema inferior em 3 centímetros após a cirurgia com o PRGF comparativamente à cirurgia de controlo. Dados demonstrados na figura 38.

De acordo com os dados recolhidos no terceiro dia, após a exodontia com PRGF em 65% dos pacientes ocorreu um menor edema, para 25% não existiram diferenças, e para 10% o edema foi menor após a cirurgia de controlo. A maior disparidade foi sentida por três pacientes no valor de 2cm, correspondendo sempre o valor inferior à cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 39.

No quarto dia após a cirurgia, 60% dos pacientes sentiram um edema inferior após a utilização de PRGF na exodontia, para 30% dos pacientes não existiram diferenças e os restantes 10% revelaram um menor edema após a cirurgia de controlo. A divergência maior foi no valor de 2,5 cm, tendo sido o valor inferior sentido pelo paciente após a cirurgia com o PRGF. Dados demonstrados na figura 40.

Para 35% dos pacientes o edema foi menor no quinto dia após a cirurgia com PRGF e para os restantes 65% não existiram diferenças. A maior discrepância foi de 2cm, em que o valor inferior corresponde ao edema do paciente após a cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 41.

O edema F3, sentido no sexto dia, foi para 30% dos pacientes inferior após a exodontia com PRGF e para os restantes 70% não existiram diferenças. Cinco pacientes descreveram a maior disparidade de valores após as duas cirurgias, onde valor inferior em 1cm correspondeu ao pós-operatório da cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 42.

De acordo com a figura 43, onde podemos analisar a comparação da média dos resultados descritos pelos pacientes ao longo dos seis dias, podemos concluir que os valores de edema F3 correspondentes ao período pós-operatório da cirurgia com PRGF foram inferiores em relação aos valores após a cirurgia de controlo. O pico máximo de edema ocorreu no terceiro dia após as cirurgias, assim como para F1 e F2, e como esperado os valores demonstram uma tendência decrescente ao longo dos dias.

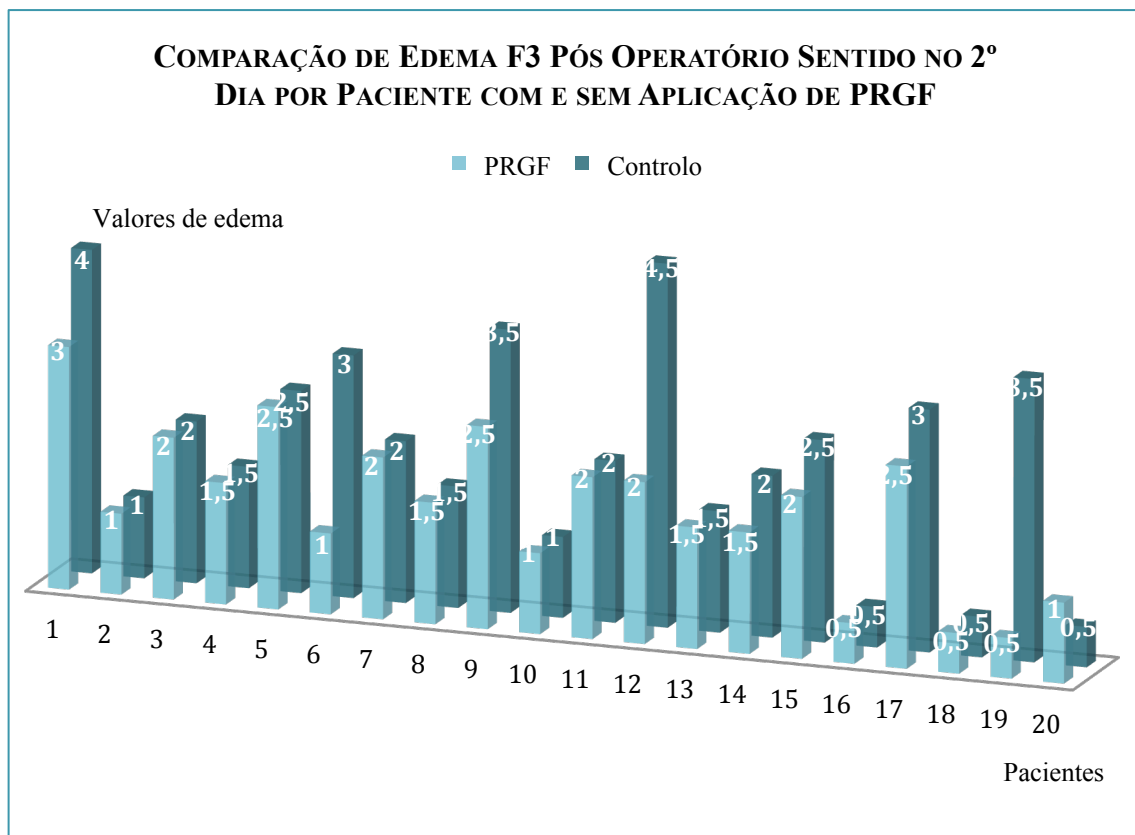


Figura 38 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

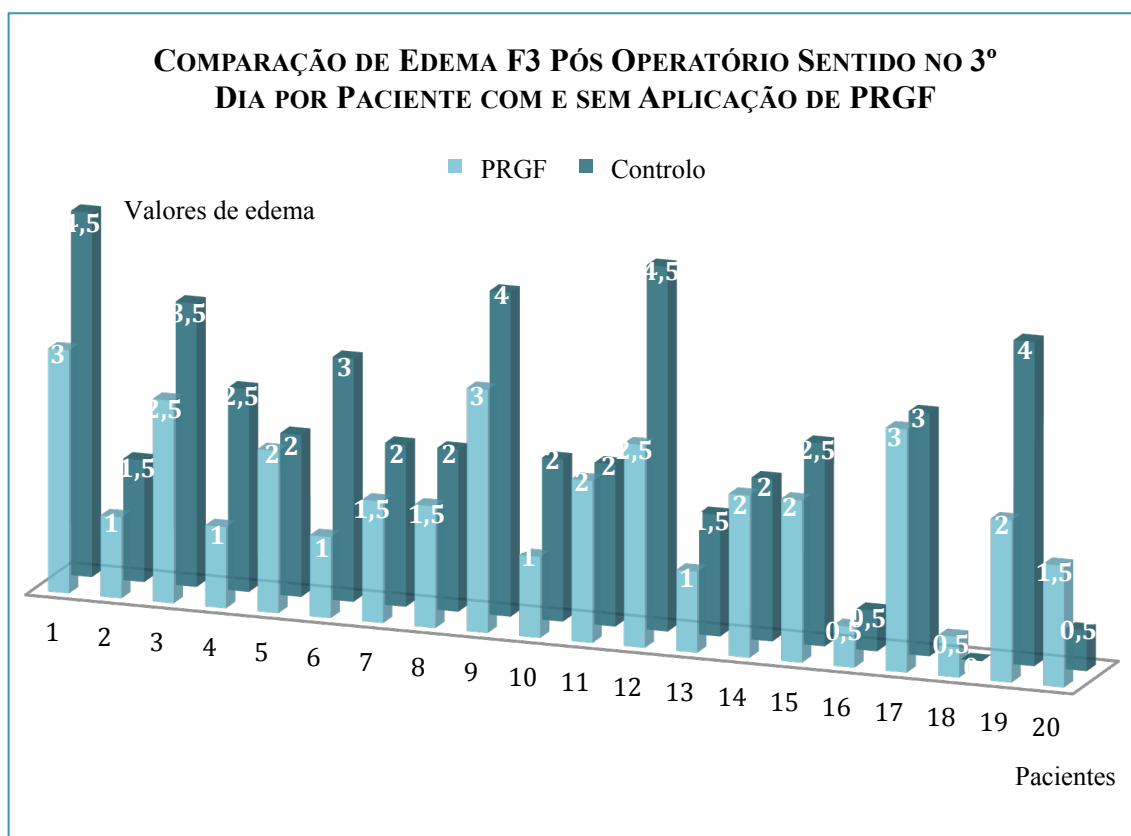


Figura 39 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

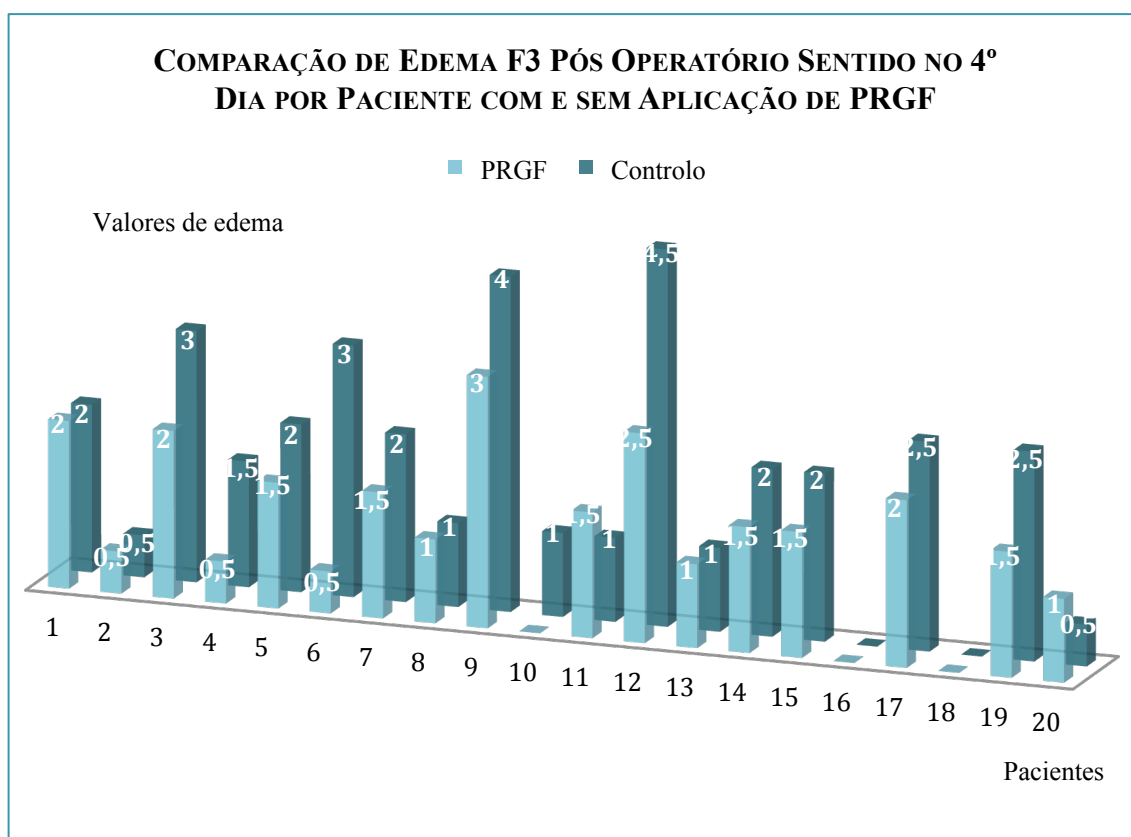


Figura 40 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

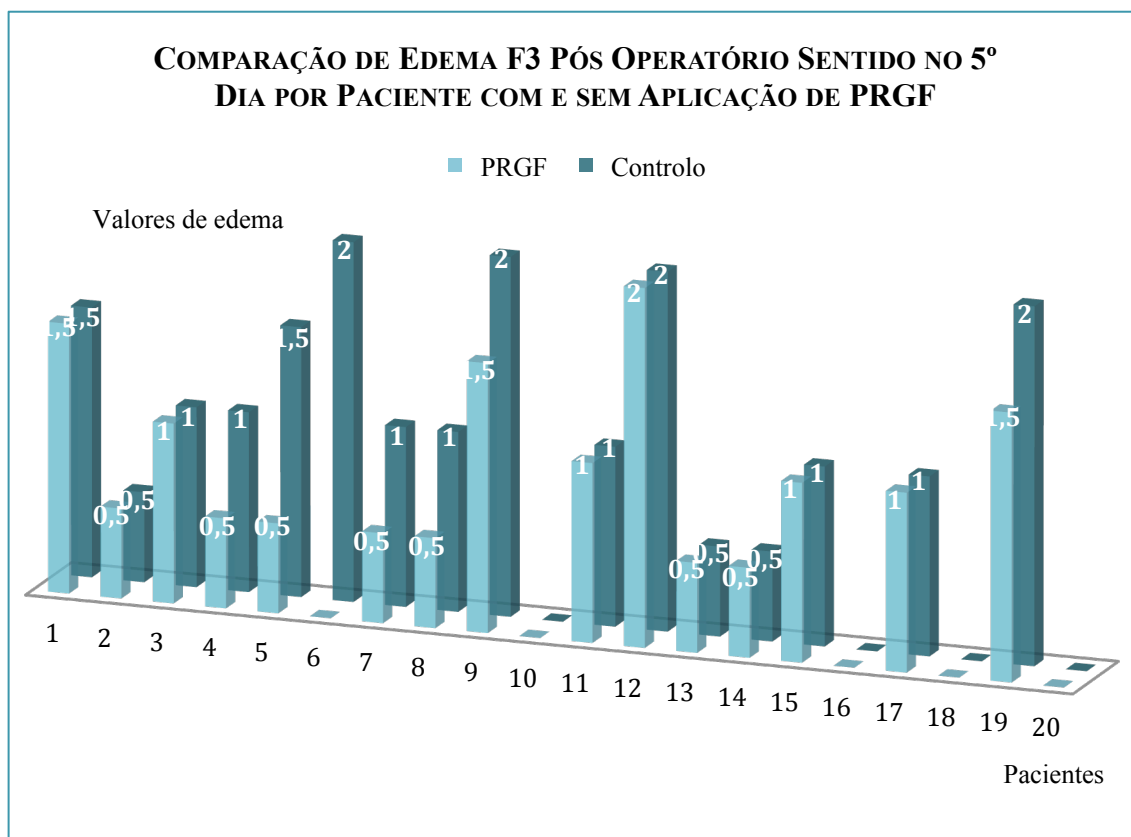


Figura 41 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

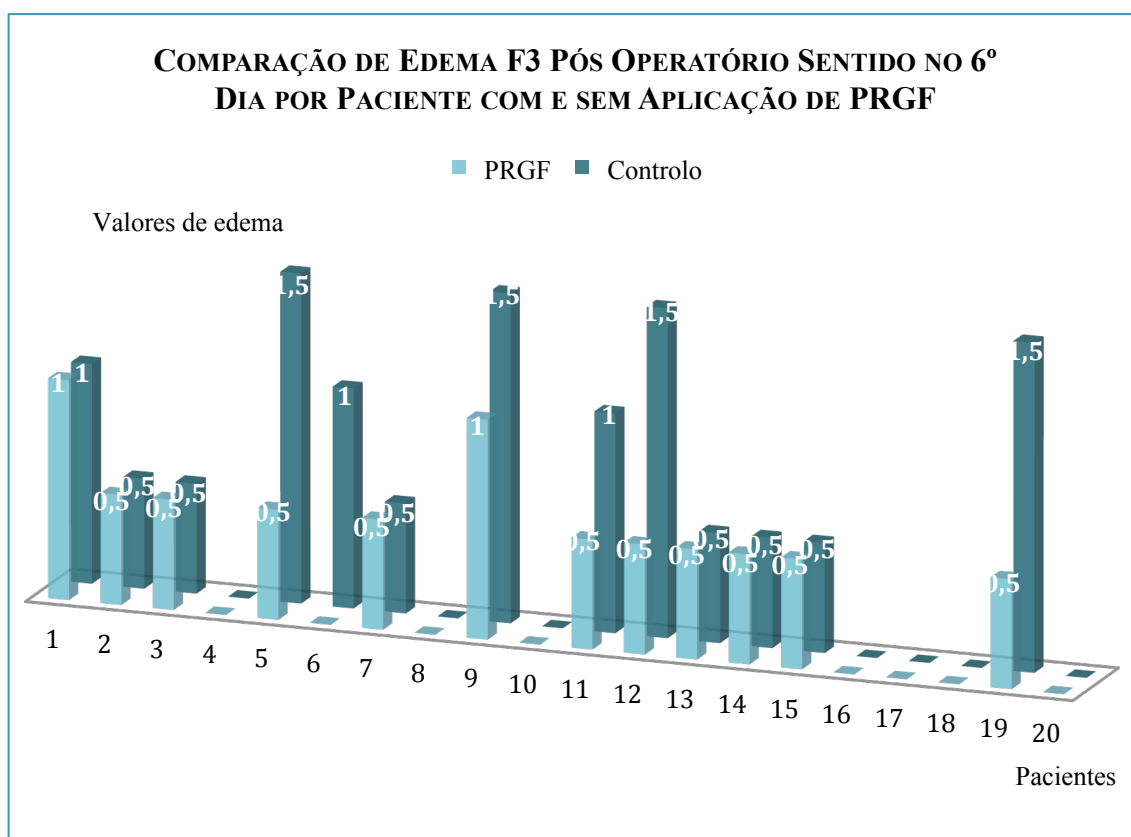


Figura 42 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

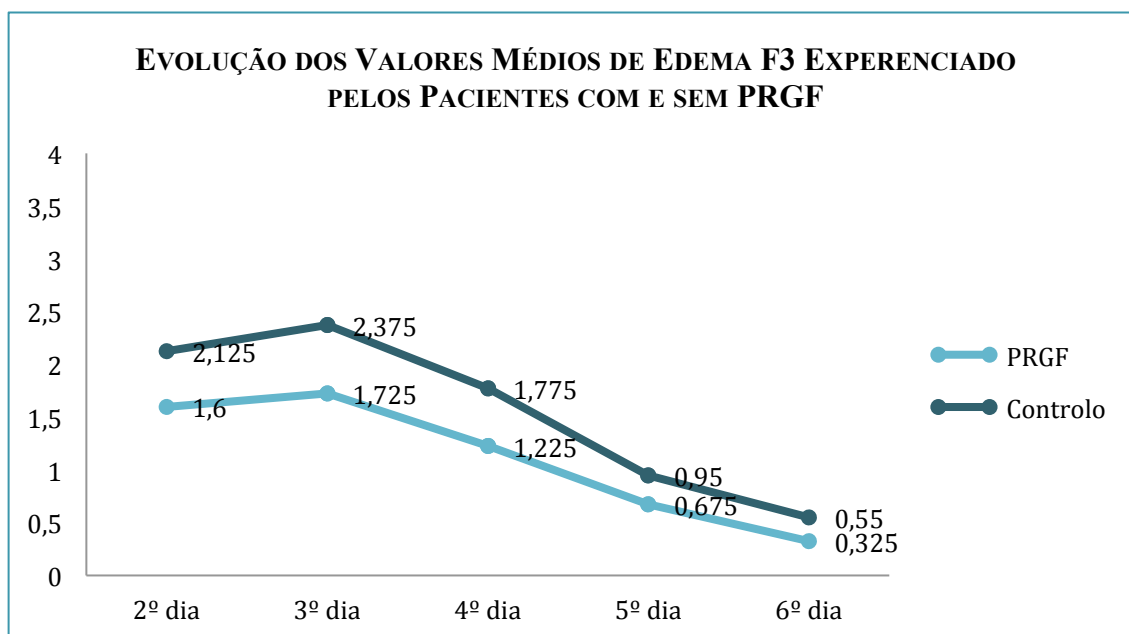


Figura 43 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

2.4 EDEMA PÓS OPERATÓRIO F4

Em relação ao edema da medida F4, 60% dos pacientes sentiu, no segundo dia de pós-operatório, um edema inferior após a utilização de PRGF na cirurgia de extração e para os restantes 40% não existiram diferenças após as duas cirurgias. A maior divergência de valores foi descrita por três pacientes que o descreveram inferior em 3cm após a exodontia com PRGF. Dados demonstrados na figura 44.

No terceiro dia após a cirurgia 55% dos pacientes descreveram um menor edema após a cirurgia com PRGF, para 40% não existiram diferenças e os restantes 5% sentiram um edema inferior após a cirurgia de controlo. Em relação às disparidades de valores, um paciente relatou uma diferença de 3cm onde o valor inferior correspondeu ao pós-operatório do grupo PRGF. Dados demonstrados na figura 45.

No quarto dia de pós-operatório 65% dos pacientes descreveram um edema inferior no decorrer da cirurgia com PRGF e os restantes 35% não sentiram diferenças no edema entre as duas cirurgias. Ao analisar os dados podemos constatar que a maior divergência de valores entre as duas cirurgias foi sentida por um paciente no valor de 3cm, em que o menor edema correspondeu à cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 46.

O edema F4, descrito no quinto dia, foi inferior após a cirurgia com PRGF para 50% dos pacientes e para os restantes 50% não existiram diferenças após as duas cirurgias. A maior disparidade de valores entre as duas cirurgias foi de 2,5cm, sentida por um paciente, sendo que o valor inferior correspondeu ao período pós-operatório do grupo PRGF. Dados demonstrados na figura 47.

30% dos pacientes referiram, no sexto dia, um edema inferior após a cirurgia com PRGF e os restantes 70% não descreveram diferenças entre os dois grupos de estudo. Dos 20 pacientes observados a maior discrepância no edema entre as duas cirurgias foi de 3cm, sendo que o valor inferior ocorreu após a cirurgia com PRGF. Dados demonstrados na figura 48.

Ao analisarmos os dados dispostos pela figura 49, que nos traduz a média dos resultados supramencionados referentes à medida F4, podemos constatar que os pacientes sentiram em média um edema menor após a utilização de PRGF do que na cirurgia de controlo. Os valores demonstraram, assim como os anteriores, uma tendência decrescente ao longo do tempo e o pico máximo de edema sentido ocorreu no terceiro dia de pós operatório em concordância com todos os edemas analisados anteriormente.

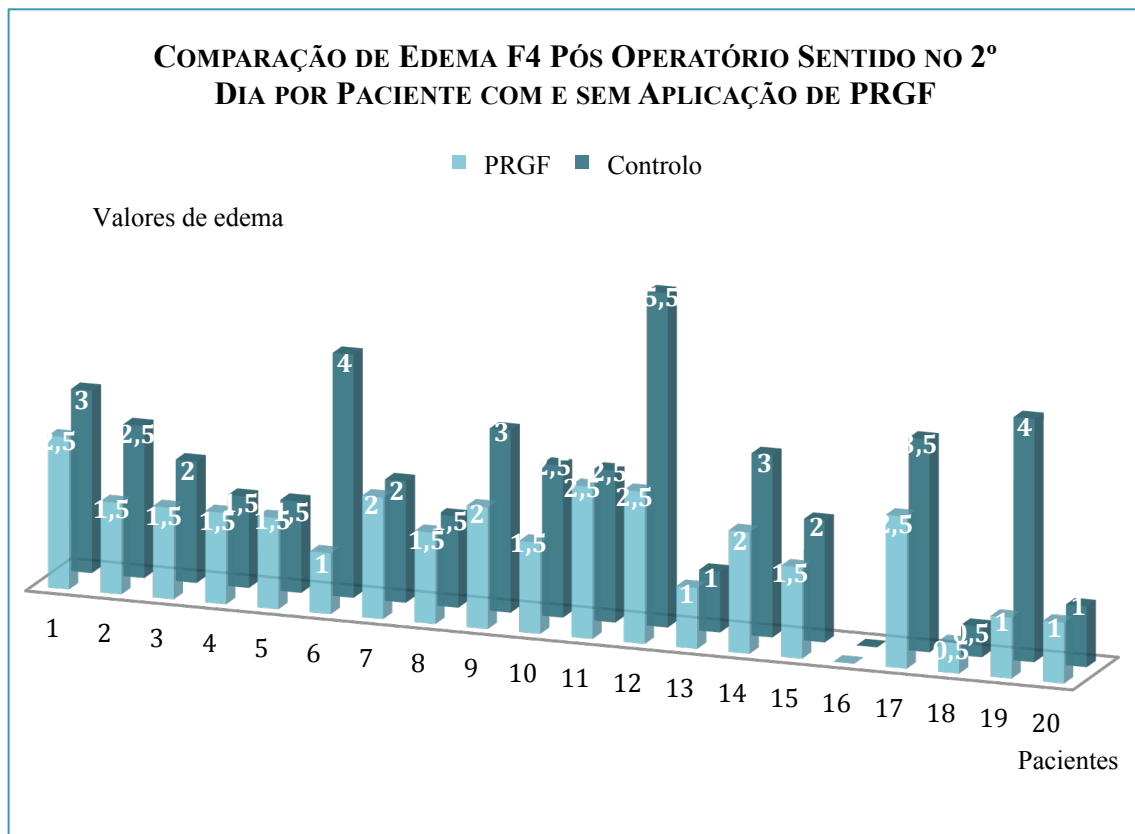


Figura 44 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

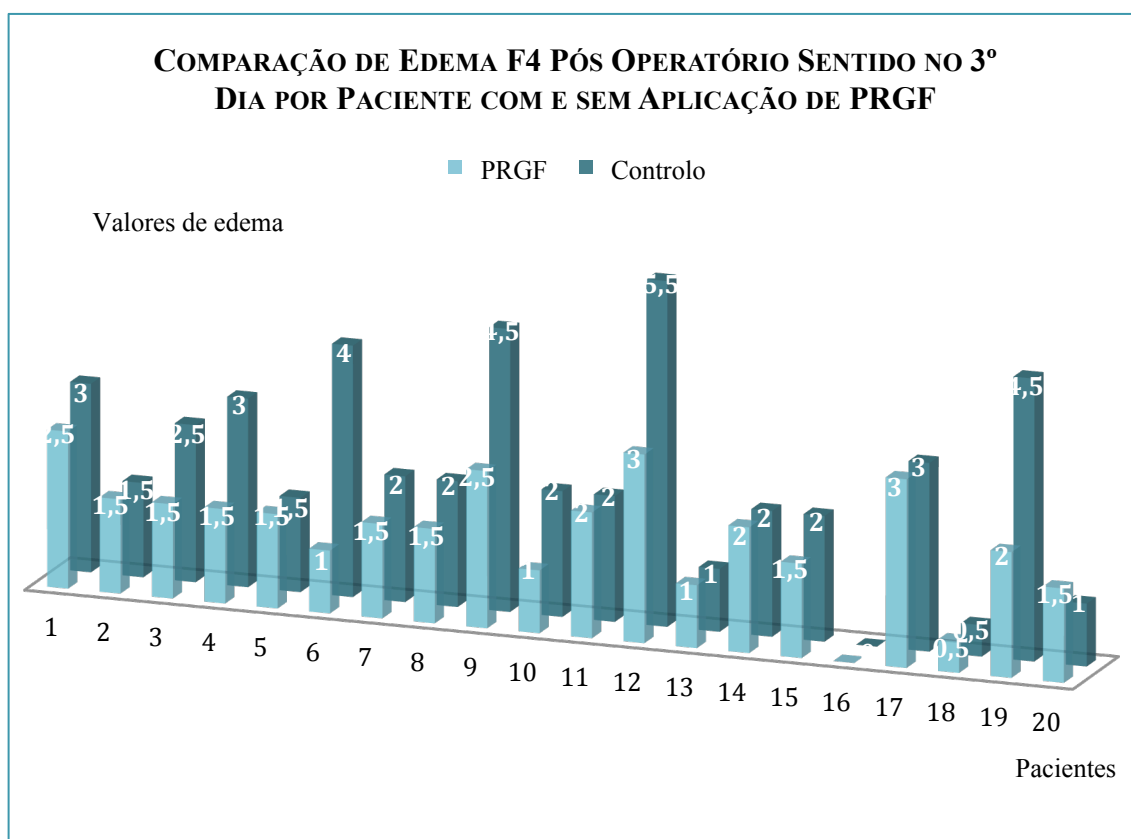


Figura 45 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

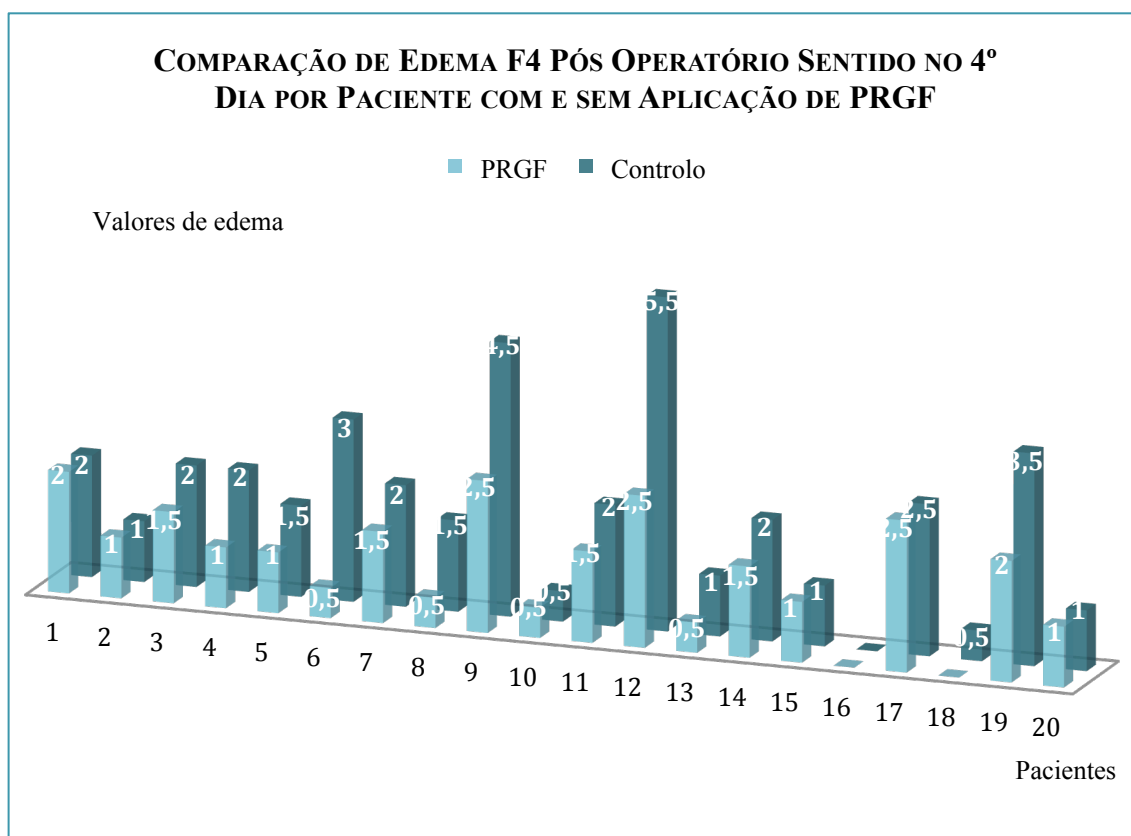


Figura 46 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

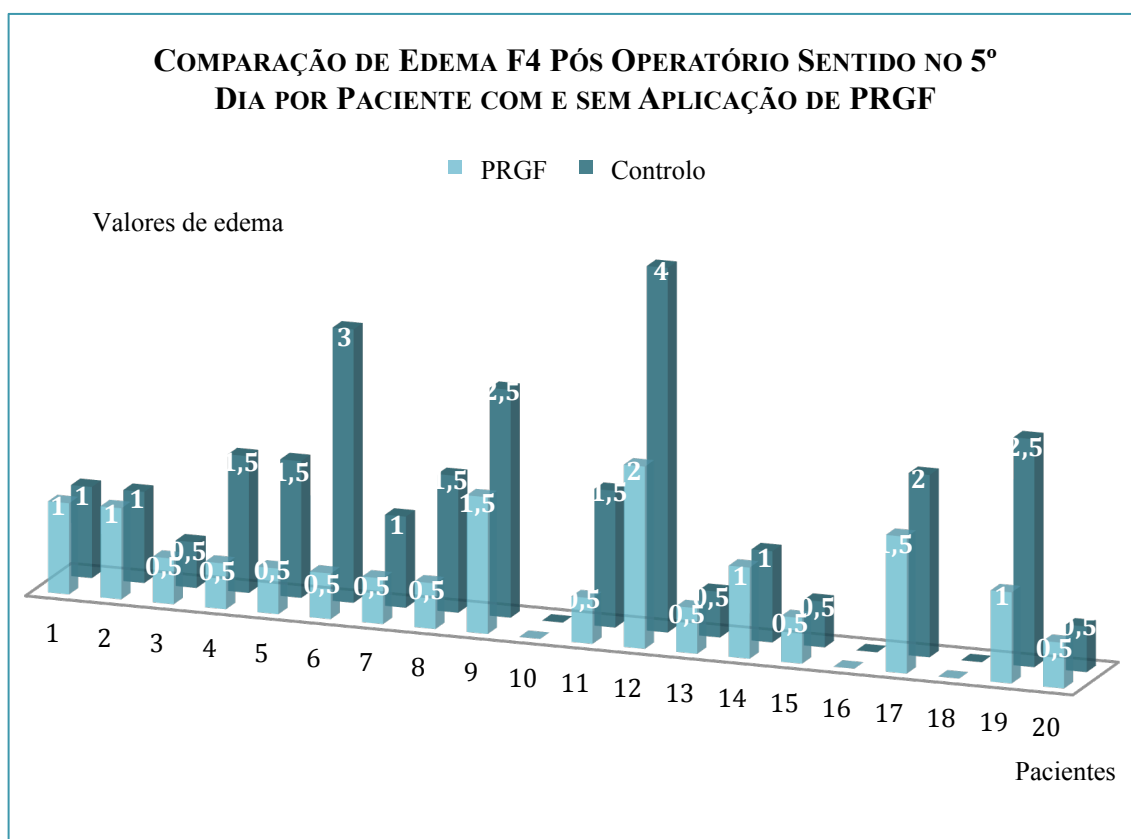


Figura 47 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

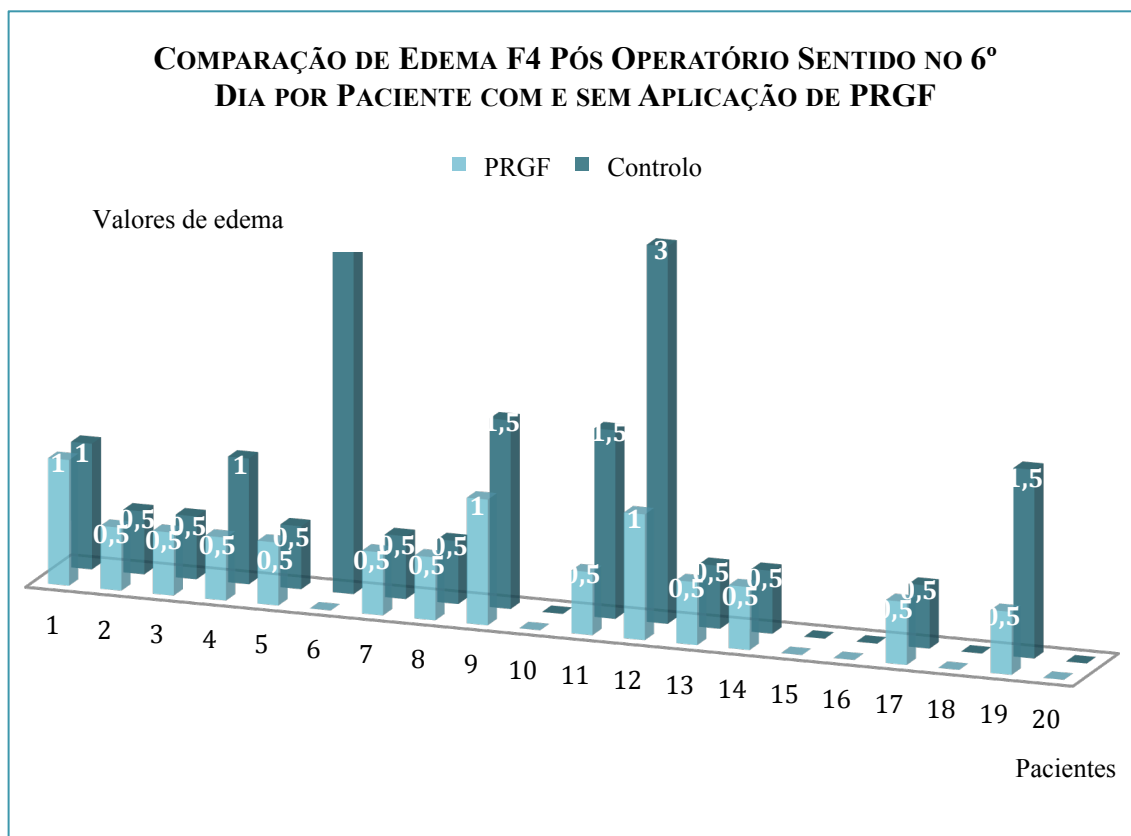


Figura 48 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

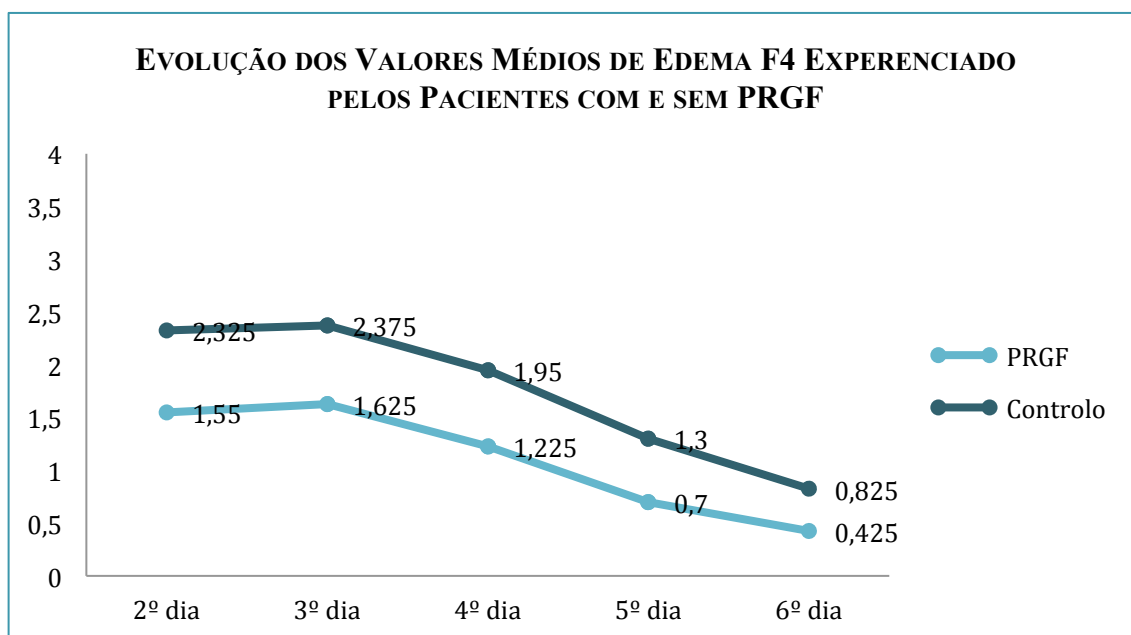


Figura 49 – Gráfico comparativo do edema pós-operatório.

3. VOLUME ALVEOLAR RESIDUAL

O volume alveolar residual foi calculado com base nas medidas vestibulo-lingual, mesio-distal e profundidade alveolar obtidas na consulta de *follow-up*.

De acordo com os dados recolhidos, 80% dos pacientes demonstraram um volume alveolar inferior na consulta de *follow up* da cirurgia com PRGF, sendo que em 15% não se observaram diferenças e nos restantes 5% o volume alveolar foi inferior após a cirurgia de controlo. O valor médio do volume alveolar residual dos 20 pacientes foi inferior em 53% em comparação com o volume alveolar residual após a cirurgia de controlo. Dados demonstrados na figura 50 e 51.

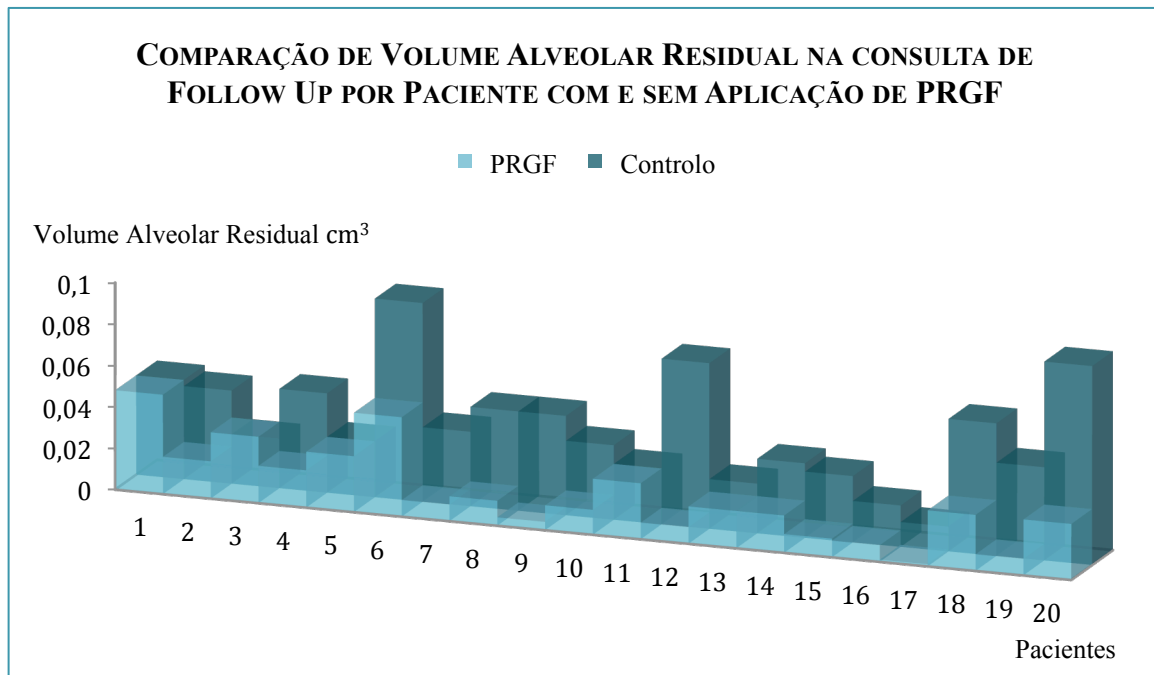


Figura 50 - Gráfico comparativo de volume alveolar residual.

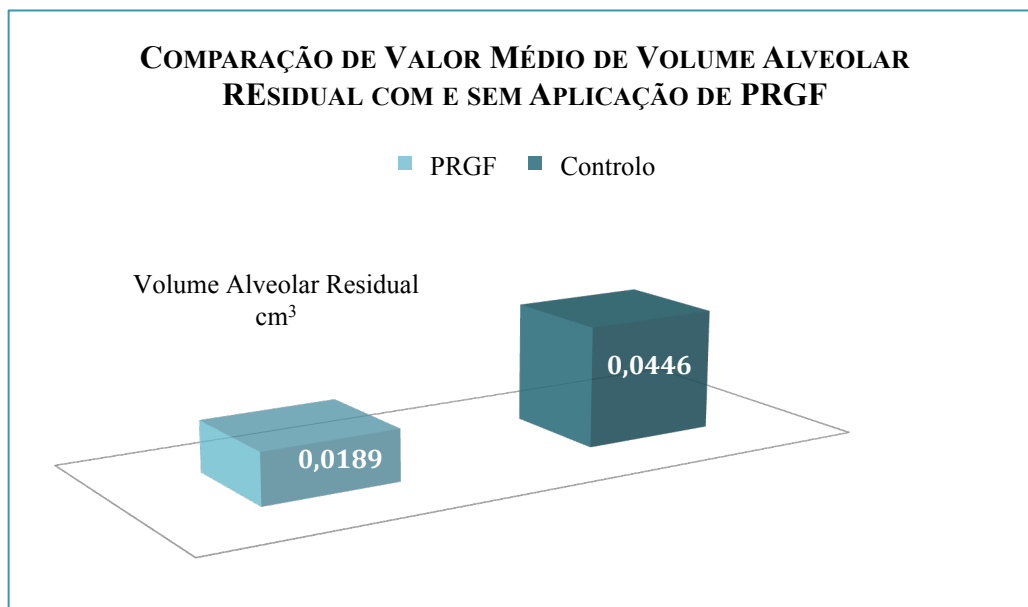


Figura 51- Gráfico comparativo de volume alveolar residual.

4. HEALING INDEX

O HI, avaliado na consulta de *follow up*, consiste num índice de avaliação da maturação e qualidade da regeneração dos tecidos, resultando numa escala de 4 a 12, sendo 4 uma excelente regeneração e 12 uma pobre regeneração.

De acordo com os dados recolhidos 75% dos pacientes demonstraram um valor inferior no índice de regeneração ou HI na consulta de *follow up* da cirurgia com PRGF, sendo que nos restantes 25% não se observaram diferenças entre as cirurgias. O valor médio do índice de regeneração ou HI dos 20 pacientes foi inferior em 24% em comparação com o volume alveolar residual após a cirurgia de controlo. Dados demonstrados na figura 52 e 53.

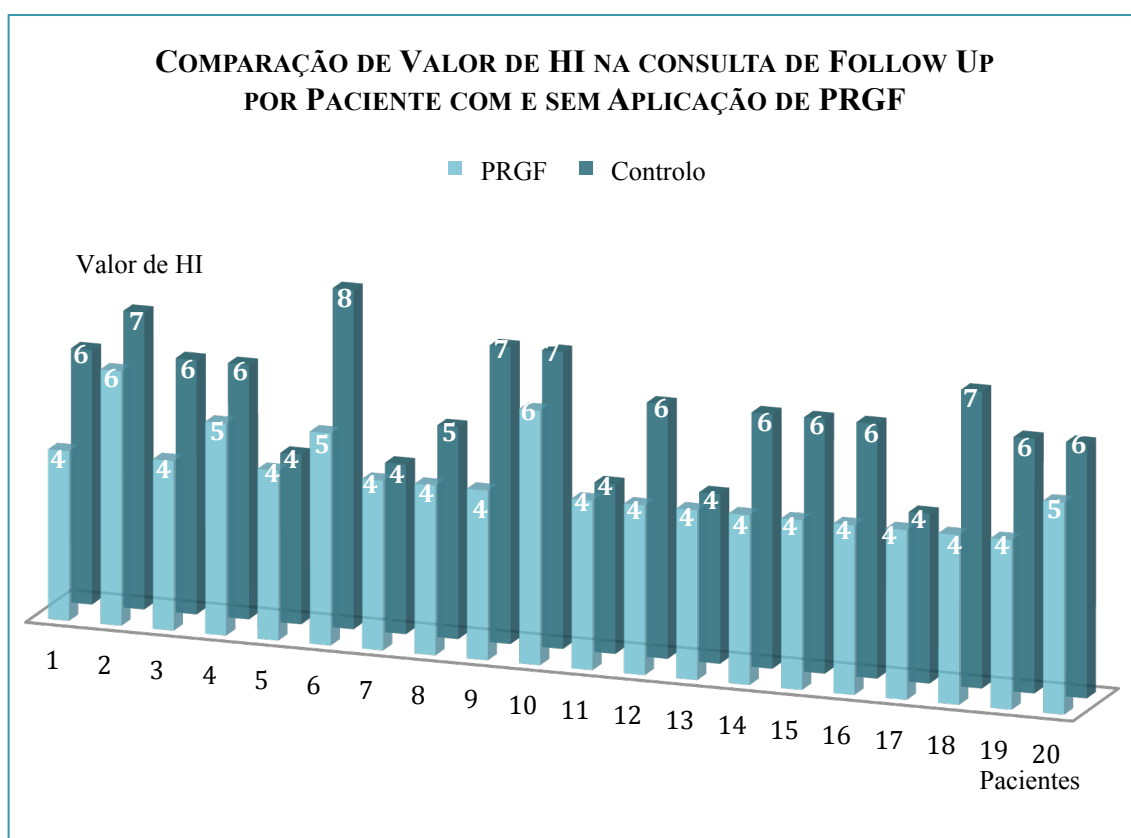


Figura 52 - Gráfico comparativo de valor de HI.

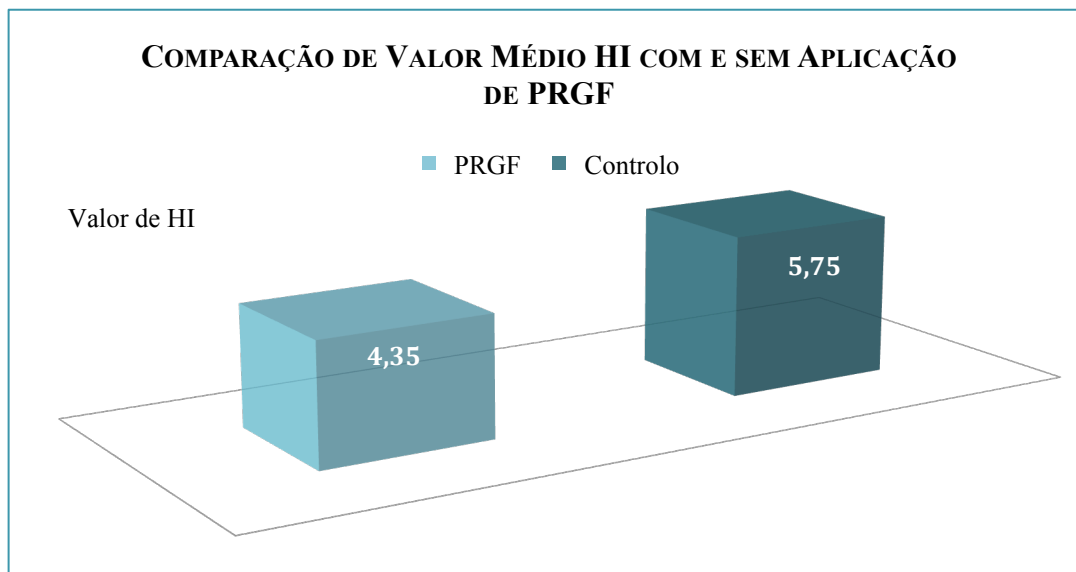


Figura 53 - Gráfico comparativo de valor de HI.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizado o teste paramétrico t-student para as variáveis Volume Alveolar Residual, Dor Máxima, e Edema Máximo F1, F2, F3 e F4 nas quais foram verificados os pressupostos para este teste que verifica a significância estatística dos resultados a partir dos valores médios.

Podemos constatar que existiram diferenças estatisticamente significativas, conforme apresentado no quadro 1, entre a comparação dos resultados obtidos com PRGF e os resultados das cirurgias de controlo nas variáveis: Volume Alveolar Residual ($p < 0,001$, teste t-student), Edema Máximo F1 ($p = 0,026$, teste t-student) e Edema Máximo F4 ($p = 0,024$, teste t-student). Sendo que para as restantes variáveis, Dor Máxima, Edema Máximo F2 e F3, apesar de as suas médias serem sempre inferiores no grupo PRGF estes valores não foram estatisticamente significativos.

	Grupo	Média ± Desvio Padrão	Significância
Volume Alveolar Residual	PRGF	0,019±0,013	$p < 0,001$
	Controlo	0,036±0,013	
Dor máxima	PRGF	4,65±1,268	$p = 0,087$
	Controlo	5,40±1,429	
Edema máximo F1	PRGF	2,00±0,811	$p = 0,026$
	Controlo	2,93±1,559	
Edema máximo F2	PRGF	1,73±0,752	$p = 0,088$
	Controlo	2,33±1,321	
Edema máximo F3	PRGF	2,48±1,175	$p = 0,130$
	Controlo	3,13±1,468	
Edema máximo F4	PRGF	1,70±0,767	$p = 0,024$
	Controlo	2,55±1,404	

Tabela 7 – Resultados segundo o teste t-student para as variáveis volume alveolar residual, dor máxima e edema máximo F1, F2, F3 e F4.

Para avaliar a variável HI, devido à não empregabilidade do teste t-student, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, que procura estabelecer a significância estatística dos resultados a partir da mediana e soma total.

Este teste demonstrou que as diferenças nos resultados obtidos entre o grupo PRGF e o grupo Controlo em relação ao HI foram estatisticamente significativas ($p < 0,001$, teste Mann-Whitney)

	Grupo	Posto Médio	Significância
HI	PRGF	14,25	$p < 0,001$
	Controlo	26,75	

Tabela 8 – Resultados segundo o teste Mann-Whitney para a variável HI.

IV. Discussão

Na medicina dentária um procedimento efectuado com alguma regularidade é a extração dentária, podendo tratar-se de dentes severamente cariados, com graves lesões periodontais, não restauráveis ou inclusos, dado que este tipo de procedimentos estão geralmente associados à alteração da qualidade de vida dos pacientes no período pós-operatório, com ocorrência de dor e edema significativos particularmente no caso de exodontia de terceiros molares inclusos, tem-se vindo a desenvolver técnicas que procuram diminuir o desconforto pós-operatório e melhorar a regeneração dos tecidos. Uma destas técnicas é o plasma rico em plaquetas ou PRP, que procura através da libertação de inúmeros factores de crescimento pelas plaquetas, intervenientes nos processos de regeneração de tecidos, promover uma melhor regeneração tecidual num menor espaço de tempo.

No entanto apesar destas terapias se revelarem bastante promissoras, existem ainda poucos estudos relativos à sua eficácia, assim como numerosos resultados contraditórios, criando algumas lacunas nos seus pressupostos e necessidade de novas respostas. Pretendeu-se com esta investigação explorar a verdadeira eficácia dos PRPs, neste caso do PRGF, na regeneração tecidual após a extração de terceiros molares inclusos, verificando a sua competência na melhoria da qualidade de vida pós-operatória dos pacientes.

Para o presente estudo foram observadas 40 cirurgias de 20 pacientes, formando dois grupos de análise, o grupo PRGF e o grupo Controlo. A amostra foi deste modo composta por 20 pacientes que necessitassem de duas ou mais cirurgias de extração de terceiros molares inclusos – critério de inclusão, sendo que qualquer paciente que padecesse de patologias não foi considerado para o estudo – critério de exclusão, com intento de fiabilizar os resultados obtidos na avaliação na regeneração dos tecidos. Deste modo cada paciente actuou como o seu próprio controlo eliminando possíveis variáveis causadas pela diferente resposta individual ao PRGF. A amostra situa-se portanto dentro dos moldes de estudos semelhantes, nos quais o número de pacientes varia de 6 a 120. (Cocero *et al.*, 2014; Motamedi *et al.*, 2012; Mozzati *et al.*, 2010, 2014; Rutkowski *et al.*, 2010)

1. DOR PÓS-OPERATÓRIA

Uma das complicações pós operatórias mais frequentes após a exodontia de terceiros molares inclusos é a dor, podendo variar de incomodativa a dor severa.

Neste estudo a dor pós-operatória foi registada por cada paciente após as duas cirurgias com base numa escala analógica visual de 0 a 10, sendo 0 indolor e 10 dor máxima.

A dor sentida pelos pacientes foi sempre inferior no Grupo PRGF ao longo dos 7 dias com uma média de $4,65 \pm 1,268$ DP em comparação com $5,40 \pm 1,429$ DP no Grupo de Controlo, no entanto estes valores não foram estatisticamente significativos. Resultados semelhantes foram encontrados em diversos estudos, Alissa *et al* (2010) demonstrou assim como no presente estudo uma dor mais forte, sobretudo nos três primeiros dias, no grupo de Controlo, no entanto os seus resultados tiveram tradução estatística. (Albanese *et al.*, 2013) Uma das hipóteses para a diferença nos resultados estatísticos é a limitação da escala VAS e a subjetividade individual da percepção de dor, (M. D. Reed & Van Nostran, 2014) e de acordo com Rutkowski *et al.*, (2010) diversos factores podem afectar a percepção de dor dificultando a avaliação do efeito dos PRPs sobre a mesma.

Segundo Motamedi *et al.*, (2012) a aplicação de PRGF no alvéolo após a extração foi associado à diminuição de dor e desconforto.

Um estudo similar a esta investigação, desenvolvido por Mozzati *et al.*, (2010), Determinou que a dor segundo a VAS foi sempre inferior independentemente do tempo no grupo do PRGF, no entanto os resultados foram apenas estatisticamente significativos ao sétimo dia após a exodontia. Figura 54.

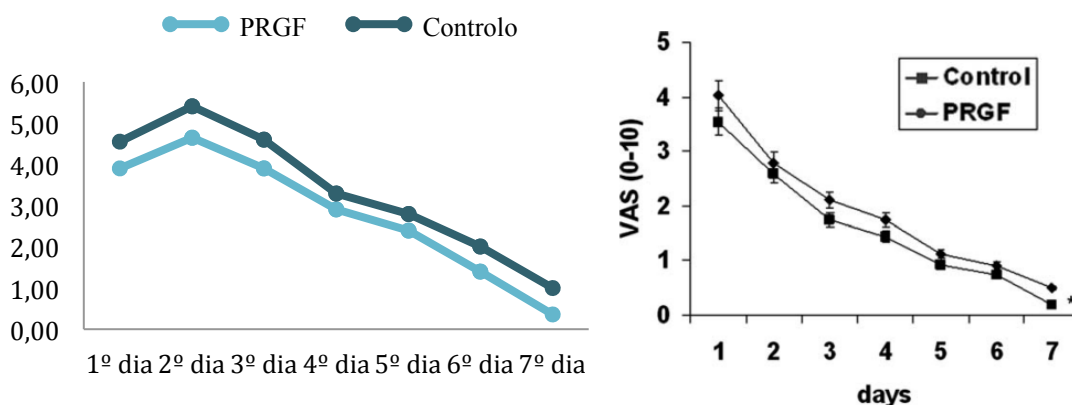


Figura 54 - Comparação entre os resultados relativos à dor sentida pelos pacientes com base na escala VAS após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati *et al.*, 2010)

2. EDEMA PÓS-OPERATÓRIO

Outra das complicações frequentes após a cirurgia de terceiros molares inclusos é o edema facial, fortemente associado à dor e à alteração da qualidade de vida dos pacientes no período pós-operatório.

Cada paciente registou o edema pós-operatório sentido após cada uma das duas cirurgias, resultando em 4 medidas chave: F1, distância entre o ângulo goníaco e tragus da orelha; F2, distância entre ângulo goníaco e canto externo do olho; F3, distância entre ângulo goníaco e espinha nasal e F4, distância entre ângulo goníaco e comissura labial.

Nesta investigação o edema resultante após as exodontias foi inferior para todas as medidas no Grupo PRGF. Sendo que na medida F1 a média de edema foi $2,00 \pm 0,811$ DP no Grupo PRGF em comparação com $2,93 \pm 1,559$ DP no Grupo Controlo, na medida F2 o edema foi $1,73 \pm 0,752$ DP no grupo PRGF comparativamente a $2,33 \pm 1,321$ DP no Grupo Controlo, a medida F3 obteve resultados semelhantes, $2,48 \pm 1,175$ DP no Grupo PRGF em relação à média de $3,13 \pm 1,468$ no Grupo Controlo, e na medida F4, analogamente aos dados anteriores, observou-se uma média de $1,70 \pm 0,767$ DP no grupo PRGF em comparação com $2,55 \pm 1,404$ DP. Estas diferenças entre o Grupo PRGF e o Grupo Controlo foram estatisticamente significativas nas Medidas F1 e F4 ($p < 0,05$, teste t-student).

De acordo com Alissa *et al.* (2010) o edema facial e a abertura interincisal apresentaram melhores resultados após a aplicação de PRP (Albanese *et al.*, 2013).

Um estudo semelhante ao desenvolvido nesta tese concretizado por Mozzati *et al.*, (2010), revelou um menor edema nas mesmas quatro medidas desta investigação no Grupo PRGF em comparação com o Grupo Controlo, onde as diferenças foram estatisticamente significativas para todas as médias, excepto ao sétimo dia nas médias Go-Tr (equivalente à medida F1) e Go-Po (equivalente à medida F4). A comparação entre os dados obtidos pelo estudo supracitado e os da presente investigação podem ser observados nas figuras 55, 56, 57 e 58.

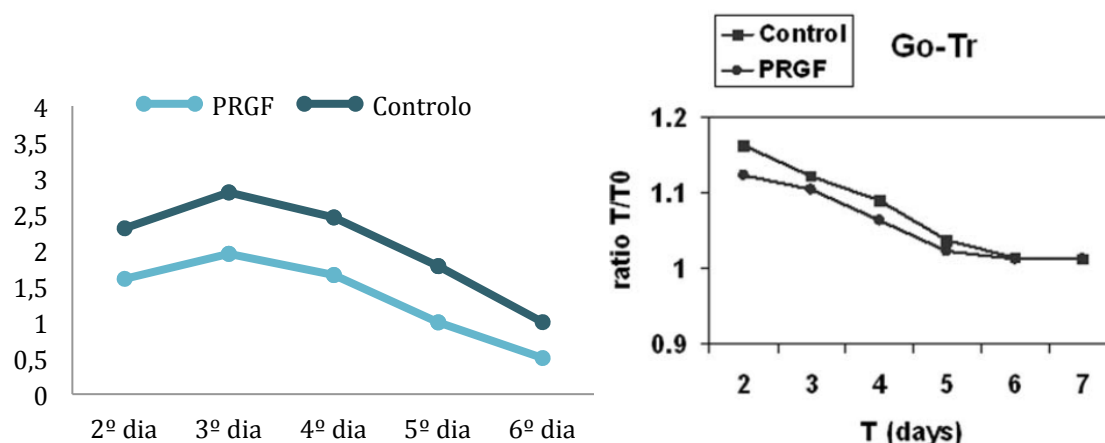


Figura 55 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati *et al.*, 2010)

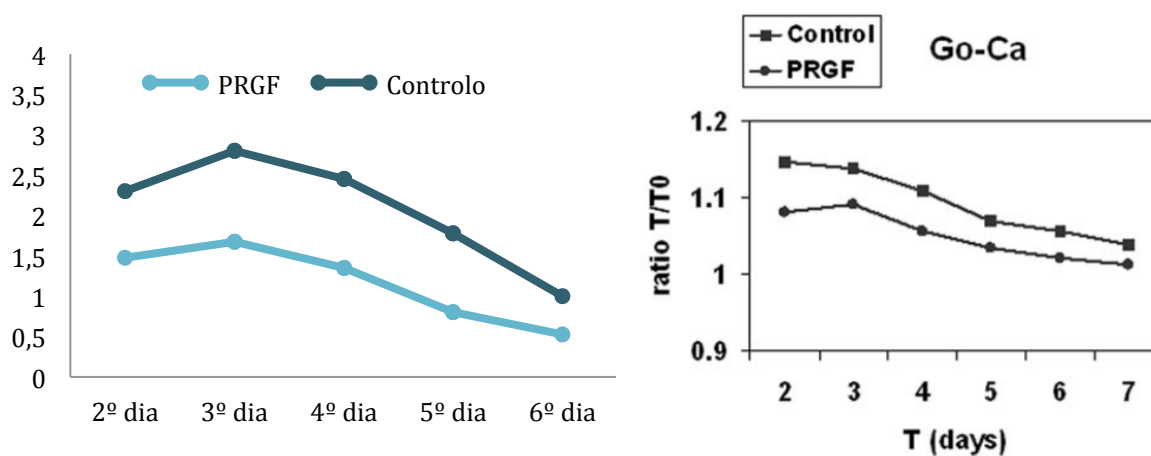


Figura 56 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati *et al.*, 2010)

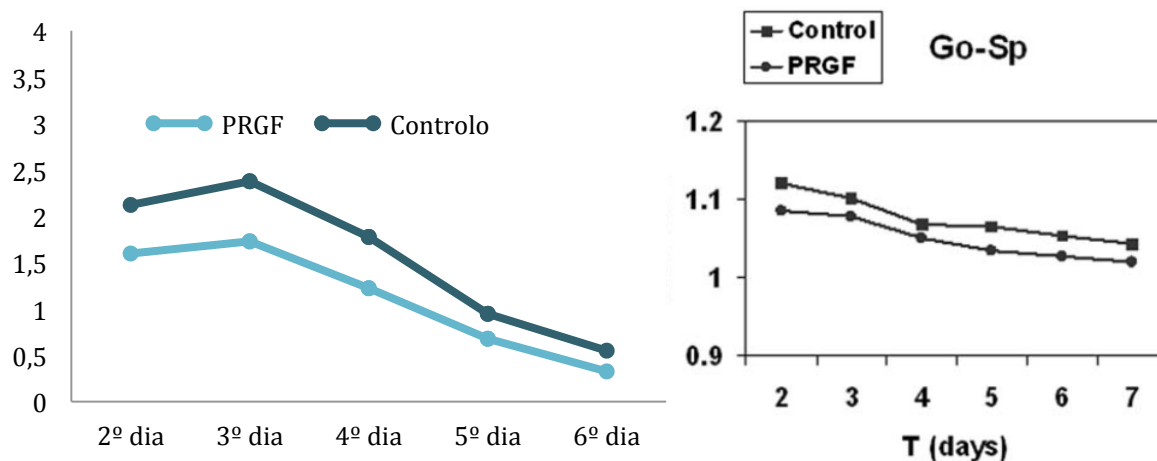


Figura 57 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati *et al.*, 2010)

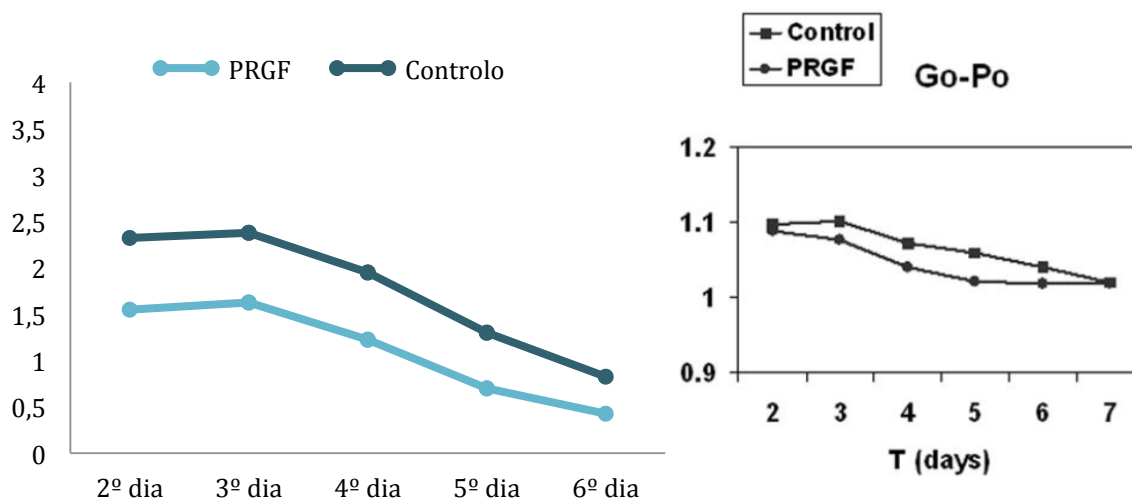


Figura 58 - Comparação entre os resultados relativos ao edema sentido pelos pacientes após as cirurgias com PRGF e de controlo. Gráfico A resultados desta investigação, gráfico B resultados segundo (Mozzati *et al.*, 2010)

3. VOLUME ALVEOLAR RESIDUAL E HI

Em relação ao volume alveolar residual, este foi calculado com base nas medidas vestibulo-lingual, mesio-distal e profundidade alveolar. O HI ou *Healing Index* consiste num índice de avaliação da maturação e qualidade da regeneração dos tecidos, resultando numa escala de 4 a 12, sendo 4 uma excelente regeneração e 12 uma pobre regeneração. Ambas as variáveis foram observadas na consulta de *follow-up* no sétimo dia após cada cirurgia.

De acordo com os dados recolhidos 80% dos pacientes demonstraram um volume alveolar inferior na consulta de *follow up* da cirurgia com PRGF, visto que esse valor foi inferior em 53% em comparação com o volume alveolar residual após a cirurgia de controlo. O HI obteve resultados semelhantes, 75% dos pacientes revelaram um valor inferior na escala após a cirurgia com PRGF, sendo esse valor em média inferior em 24% relativamente ao valor após a cirurgia do Grupo de Controlo. Estes dados foram estatisticamente significativos de acordo com o teste t-student ($P < 0,001$) para a variável volume alveolar residual e teste Mann-Whitney ($P < 0,001$) para a variável HI.

Os resultados obtidos sustentam a validade da eficácia do PRGF na promoção da maturação e qualidade da regeneração de tecidos moles, vindo ao encontro dos resultados obtidos por outros estudos como Mozzati *et al.*, (2014), que avaliou a eficácia do PRGF na regeneração alveolar após exodontias em pacientes insulino-dependentes com diabetes mellitus. Neste estudo foi igualmente utilizado o HI e o mesmo método de avaliação do volume alveolar residual, demonstrando resultados estatisticamente significativos até ao décimo quarto dia de *follow up* na melhoria da hemostase e formação de epitélio e um decréscimo no volume alveolar residual, estatisticamente significativo até ao sétimo dia de *follow up*, no Grupo PRGF em comparação com o Grupo Controlo. De acordo com este autor “a aplicação de PRGF após a extração dentária favorece uma recuperação precoce e saudável, acelerando a regeneração e o encerramento dos alvéolos e melhorando as condições clínicas em geral.”

Motamedi *et al.*, (2012) relata a melhoria na qualidade da regeneração dos tecidos promovida pelo PRGF. Cocero *et al.*, (2014) afirma que o PRGF melhora e acelera a regeneração e a reparação de tecidos.

Segundo Mozzati *et al.*, (2010) o PRGF demonstrou ser eficaz no processo inflamatório e regeneração tecidual. Rutkowski *et al.*, (2010) indicou a aplicação de PRGF como um método eficaz na regeneração de tecidos diminuindo o tempo necessário à mesma. De acordo com Alissa *et al.* (2010) a regeneração tecidual foi significativamente superior nos pacientes tratados com PRP em relação ao grupo de Controlo. (Albanese *et al.*, 2013)

4. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Como limitações do presente estudo, é necessário referir o tamanho da amostra. Caso tivesse sido possível aumentar o número da amostra, a probabilidade de encontrar diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos nas diferentes variáveis seria bastante superior. É requerido, igualmente, realçar a heterogeneidade da amostra assim como a inclusão de ambas as arcadas dentárias limitando a análise e extrapolação dos resultados obtidos. Ainda em relação à mesma, devido à indisponibilidade dos pacientes não foi possível aumentar o acompanhamento, neste caso o número de consultas de *follow up*, como tinha sido inicialmente previsto. Limitando-se a observação ao 7º dia após as cirurgias ao invés de ao 3º, 7º, 14º e 30º dias.

Deve-se também ter em atenção as limitações da escala VAS, por ser de interpretação simples é igualmente bastante redutora e subjectiva, assim como a própria percepção da dor pelo paciente, dificultando a análise objectiva dos efeitos do PRGF na dor pós-cirúrgica.

Em relação ao edema facial, o facto de este ter sido medido em casa por cada paciente pode ter diminuído o nível de rigor dos dados recolhidos.

Outra limitação deste estudo foi a não possibilidade da avaliação da eficácia do PRGF na regeneração dos tecidos duros, devido à falta de disponibilidade de meios de avaliação eficientes, como por exemplo tomografia computadorizada.

É ainda de destacar a ausência de uma análise histológica que nos permitisse avaliar com maior rigor a maturação e epitelização dos tecidos moles proporcionada pelo PRGF.

5. PERSPECTIVAS FUTURAS

Perante a necessidade de uma pesquisa profunda sobre a temática em questão desta tese, é fácil constatar um número restrito de artigos e a divergência de opiniões à cerca da eficácia e das aplicações da terapia com PRPs. Deste modo é necessário um contínuo desenvolvimento e pesquisa, pois a medicina regenerativa é ainda um campo com muito por discernir. Pretendeu-se assim com esta tese contribuir para os avanços na determinação da eficácia da terapia com preparados plaquetários.

Constatou-se que seria de interesse, a criação de uma esquematização simples, concisa e fácil de consultar, com as indicações das várias terapias plaquetárias disponíveis, proporcionando aos Médicos Dentistas uma opção clara na escolha e empregabilidade destas técnicas regenerativas.

Seria também relevante na realização de futuras investigações um estudo comparativo entre a eficácia dos P-PRPs e L-PRFs, demonstrando as vantagens e indicações de cada técnica. Assim como um estudo comparativo entre as diferentes concentrações de factores de crescimento libertadas por cada técnica e a concentração usual na circulação sanguínea.

Outro aspecto a ter em consideração seria uma exploração aprofundada sobre as aplicações destas terapias em pacientes com patologias como no caso da Diabetes Mellitus, patologias do foro hematológico, patologias oncológicas associadas a rádio e quimioterapias e Osteonecrose associada a terapêutica anti-reabsortiva não associada a Bifosfonatos.

V. Conclusão

Podemos concluir, tendo em conta a pesquisa efectuada, os resultados obtidos e estudados através da análise estatística, os objectivos traçados e não esquecendo todas as limitações, que:

- A extração de terceiros molares inclusos é um dos procedimentos mais frequentes em medicina dentária, responsável pelo desconforto e alteração da qualidade de vida do paciente no período pós-operatório
- A medicina regenerativa tem vindo a ser desenvolvida nos tempos recentes e cada vez mais existem avanços de carácter promissor e importantes para a saúde do ser humano.
- O PRGF é uma terapia que procura estimular a regeneração tecidular através da aplicação de um gel de plaquetas rico em factores de crescimento, e deste modo melhorar a qualidade de vida dos pacientes após as exodontias.
- Os factores de crescimento são fundamentais no processo de regeneração tecidular participando nas suas diversas fases: inflamação, formação de tecido de granulação, reepitelização, formação e remodelação da matriz celular, promovendo a quimiotaxia, angiogénese, proliferação e diferenciação celular.
- Os sintomas pós operatórios mais usuais neste tipo de cirurgias são o edema facial, dor e trismos, sendo que as complicações mais comuns são infecções, hemorragias e alveolites. O PRGF é deste modo colocado na ferida cirúrgica fomentando e acelerando a regeneração dos tecidos diminuindo os sintomas descritos.

- O PRGF demonstrou resultados promissores em todas as variáveis analisadas nesta investigação, demonstrando um valor em média inferior de dor, edema facial, volume alveolar residual e no HI ou índice de regeneração no grupo PRGF.
- De todas as variáveis analisadas os resultados obtidos perante a comparação dos dois grupos do estudo foram estatisticamente significativos para as variáveis Volume Alveolar Residual ($p < 0,001$, teste t-student), Edema Máximo F1 ($p = 0,026$, teste t-student), Edema Máximo F4 ($p = 0,024$, teste t-student) e HI ($p < 0,001$, teste Mann-Whitney) . Sendo que para as restantes variáveis, Dor Máxima, Edema Máximo F2 e F3, apesar de as suas médias serem sempre inferiores no grupo PRGF estes valores não foram estatisticamente significativos.
- Os resultados obtidos nesta investigação atestam as capacidades regenerativas do PRGF descritas na literatura, indicando esta terapia como possível modo de melhorar a qualidade de vida pós operatória dos pacientes após a extração de terceiros molares inclusos.

VI. Bibliografia

- Akhundov, K., Pietramaggiori, G., Waselle, L., Darwiche, S., Guerid, S., Scaletta, C., ... Raffoul, W. V. (2012). Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (prp) preparation for topical wound healing. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 25(4), 207–213.
- Albanese, A., Licata, M. E., Polizzi, B., & Campisi, G. (2013). Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing: I & A*, 10(1), 23. <http://doi.org/10.1186/1742-4933-10-23>
- Aminabadi, N. A. (2008). Plasma rich in growth factors as a potential therapeutic candidate for treatment of recurrent aphthous stomatitis. *Medical Hypotheses*, 70, 529–531. <http://doi.org/10.1016/j.mehy.2007.06.037>
- Anitua, E., Alkhraisat, M. H., & Orive, G. (2012). Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *Journal of Controlled Release*, 157(1), 29–38. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.07.004>
- Anitua, E., Sánchez, M., Orive, G., & Andía, I. (2007). The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials*, 28, 4551–4560th. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.06.037>
- Antonarakis, E. S., & Wozney, J. L. (2014). Growth factor and signaling pathways and their relevance to prostate cancer therapeutics, 33(0), 581–594. <http://doi.org/10.1007/s10555-013-9475-z>.Growth
- Assirelli, E., Filardo, G., Mariani, E., Kon, E., Roffi, A., Vaccaro, F., ... Pulsatelli, L. (2015). Effect of two different preparations of platelet-rich plasma on synoviocytes. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 23(9), 2690–2703. <http://doi.org/10.1007/s00167-014-3113-3>
- Azami, S., Vo Nguyen, T. T., Watanabe, Y., & Kato, M. (2015). Cooperative induction of transmembrane prostate androgen induced protein TMEPAI/PMEPA1 by transforming growth factor- β and epidermal growth factor signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 456(2), 580–585. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.11.107>

- Barona-Dorado, C., González-Regueiro, I., Martín-Ares, M., Arias-Irimia, O., & Martínez-González, J. M. (2014). Efficacy of platelet-rich plasma applied to post-extraction retained lower third molar alveoli. A systematic review. *Medicina Oral, Patologia Oral Y Cirugia Bucal*, 19(2), 142–148. <http://doi.org/10.4317/medoral.19444>
- Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., & Tomic-Canic, M. (2014). Clinical Application of Growth Factors and Cytokines in Wound Healing. *Wound Repair and Regeneration : Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 1–36. <http://doi.org/10.1111/wrr.12205>
- Berendsen, A. D., & Olsen, B. R. (2014). How Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF) Regulates Differentiation of Mesenchymal Stem Cells, 62(2), 103–108. <http://doi.org/10.1369/0022155413516347>
- Carraher, C. L., & Schwarzbauer, J. E. (2013). Regulation of matrix assembly through rigidity-dependent fibronectin conformational changes. *Journal of Biological Chemistry*, 288(21), 14805–14814. <http://doi.org/10.1074/jbc.M112.435271>
- Cavallo, C., Filardo, G., Mariani, E., Kon, E., Marcacci, M., Pereira Ruiz, M. T., ... Grigolo, B. (2014). Comparison of Platelet-Rich Plasma Formulations for Cartilage Healing: An in Vitro Study. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 96(5), 423–429. <http://doi.org/10.2106/JBJS.M.00726>
- Cervelli, V., Garcovich, S., Bielli, A., Cervelli, G., Curcio, B. C., Scioli, M. G., ... Gentile, P. (2014). The Effect of Autologous Activated Platelet Rich Plasma (AA-PRP) Injection on Pattern Hair Loss : Clinical and Histomorphometric Evaluation, 2014, 1–9. <http://doi.org/10.1155/2014/760709>
- Chang, Y. C., & Zhao, J. H. (2011). Effects of platelet-rich fibrin on human periodontal ligament fibroblasts and application for periodontal infrabony defects. *Australian Dental Journal*, 56, 365–371. <http://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2011.01362.x>
- Chapin, J. C., & Hajjar, K. a. (2015). Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Reviews*, 29(1), 17–24. <http://doi.org/10.1016/j.blre.2014.09.003>
- Chen, Y. Y., Brown, N. J., Jones, R., Lewis, C. E., Mujamammi, A. H., Muthana, M., ... Barker, M. D. (2014). A peptide derived from TIMP-3 inhibits multiple angiogenic growth factor receptors and tumour growth and inflammatory arthritis

- in mice. *Angiogenesis*, 17(1), 207–219. <http://doi.org/10.1007/s10456-013-9389-y>
- Cho, H. S., Song, I. H., Park, S.-Y., Sung, M. C., Ahn, M.-W., & Song, K. E. (2011). Individual Variation in Growth Factor Concentrations in Platelet-rich Plasma and Its Influence on Human Mesenchymal Stem Cells. *The Korean Journal of Laboratory Medicine*, 31(3), 212. <http://doi.org/10.3343/kjlm.2011.31.3.212>
- Cocero, N., Pucci, F., Messina, M., Pollio, B., Mozzati, M., & Bergamasco, L. (2014). Autologous plasma rich in growth factors in the prevention of severe bleeding after teeth extractions in patients with bleeding disorders : a controlled comparison with fibrin glue, 1–8. <http://doi.org/10.2450/2014.0124-14>
- Del Fabbro, M., Gallesio, G., & Mozzati, M. (2015). Autologous platelet concentrates for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw treatment and prevention. A systematic review of the literature. *European Journal of Cancer*, 51, 62–74. <http://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.10.015>
- Demoulin, J.-B., & Essaghir, A. (2014). PDGF receptor signaling networks in normal and cancer cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 25(3), 273–83. <http://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.03.003>
- Ding, Z., Jin, G., Liang, H., Wang, W., Chen, W., Datta, P. K., ... Chen, X. (2013). Transforming growth factor β induces expression of connective tissue growth factor in hepatic progenitor cells through Smad independent signaling. *Cellular Signalling*, 25(10), 1981–92. <http://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.05.027>
- Durante, C., Agostini, F., Abbruzzese, L., Toffola, R. T., Zanolin, S., Suine, C., & Mazzucato, M. (2013). Growth factor release from platelet concentrates: Analytic quantification and characterization for clinical applications. *Vox Sanguinis*, 105, 129–136. <http://doi.org/10.1111/vox.12039>
- Ehrenfest, D. M. D., Andia, I., Zumstein, M. a, Zhang, C.-Q., Pinto, N. R., & Bielecki, T. (2014). Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, 4(1), 3–9. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4049647&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- Ehrenfest, D. M. D., Bielecki, T., Corso, M. Del, Inchingolo, F., & Sammartino, G. (2010). Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: Platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 95, 1280–1282. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.32894>
- Eming, S. a., Martin, P., & Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6(265), 265sr6–265sr6. <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337>
- Giovanini, A. F., Grossi, J. R. A., Gonzaga, C. C., Zielak, J. C., Göhringer, I., Vieira, J. D. S., ... Deliberador, T. M. (2014). Leukocyte-Platelet-Rich Plasma (L-PRP) Induces an Abnormal Histophenotype in Craniofacial Bone Repair Associated with Changes in the Immunopositivity of the Hematopoietic Clusters of Differentiation, Osteoproteins, and TGF- β 1. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 16(2), 259–272. <http://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2012.00478.x>
- Görrar, S., Ademoğlu, E., Çarlıoğlu, a., Alioğlu, B., Bekdemir, H., Sağlam, B., ... Aral, Y. (2015). Low levels of circulating platelet factor 4 (PF4, CXCL4) in subclinically hypothyroid autoimmune thyroiditis. *Journal of Endocrinological Investigation*, 4. <http://doi.org/10.1007/s40618-015-0348-x>
- Guha, N., Cowan, D. a., Sönksen, P. H., & Holt, R. I. G. (2013). Insulin-like growth factor-I (IGF-I) misuse in athletes and potential methods for detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(30), 9669–9683. <http://doi.org/10.1007/s00216-013-7229-y>
- Haltom, A. R., & Jafar-Nejad, H. (2014). The multiple roles of EGF repeat O-glycans in animal development Accepted, 1–9.
- Hiasa, M., Togawa, N., Miyaji, T., Omote, H., Yamamoto, A., & Moriyama, Y. (2014). Essential role of vesicular nucleotide transporter in vesicular storage and release of nucleotides in platelets. *Physiological Reports*, 2(6), 1–14. <http://doi.org/10.14814/phy2.12034>
- Iida, G., Asano, K., Seki, M., Sakai, M., Kutara, K., Ishigaki, K., ... Watari, T. (2014). Gene Expression of Growth Factors and Growth Factor Receptors for Potential

- Targeted Therapy of Canine Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Veterinary Medical Science*, 76(2), 301–306. <http://doi.org/10.1292/jvms.13-0378>
- Iñiguez, G., Castro, J. J., Garcia, M., Kakarieka, E., Johnson, M. C., Cassorla, F., & Mericq, V. (2014). IGF-IR Signal Transduction Protein Content and Its Activation by IGF-I in Human Placentas: Relationship with Gestational Age and Birth Weight. *PLoS ONE*, 9(7), e102252. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0102252>
- Kim, K. M., Shin, Y., & Kim, H. K. (2012). Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis, 544–550. <http://doi.org/10.1007/s10384-012-0175-y>
- Koria, P. (2012). Delivery of growth factors for tissue regeneration and wound healing. *BioDrugs*, 26(3), 163–175. <http://doi.org/10.2165/11631850-000000000-00000>
- Lee, J.-H., Nam, J., Kim, H. J., & Yoo, J. J. (2015). Comparison of three different methods for effective introduction of platelet-rich plasma on PLGA woven mesh. *Biomedical Materials*, 10, 025002. <http://doi.org/10.1088/1748-6041/10/2/025002>
- Li, T. Y., Lin, S.-Y., & Lin, S.-C. (2013). Mechanism and physiological significance of growth factor-related autophagy. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 28(6), 423–31. <http://doi.org/10.1152/physiol.00023.2013>
- Lynch, S. E., Colvin, R. B., & Antoniades, H. N. (1989). Growth Factors in Wound Healing. *Journal of Clinical Investigation*, 84(1), 640–646. <http://doi.org/10.1016/j.cpm.2014.09.010>
- Machlus, K. R., & Italiano, J. E. (2013). The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *Journal of Cell Biology*, 201(6), 785–796. <http://doi.org/10.1083/jcb.201304054>
- Mansouri, S. S., Ghasemi, M., Darmian, S. S., & Pourseyediyani, T. (2012). Treatment of Mandibular Molar Class II Furcation Defects in Humans With Bovine Porous Bone Mineral in Combination With Plasma Rich in Growth Factors. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 9(1), 41–9. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3422062&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Martín, B. G., Vallejo, R. B. de B., Iglesias, M. E. L., & Gómez, R. S. (2012). Plasma rico en factores de crecimiento derivados de las plaquetas, 1, 7–10. Disponível em

<http://drpablo.codesido.com/>

- Modarressi, A. (2013). Platelet Rich Plasma (PRP) Improves Fat Grafting Outcomes, 2(1), 6–13.
- Moroz, A., & Deffune, E. (2013). Platelet-rich plasma and chronic wounds: remaining fibronectin may influence matrix remodeling and regeneration success. *Cytotherapy*, 15(11), 1436–1439. <http://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.05.019>
- Motamedi, M. H., Alavi, M., Adibnejad, S., Haraji, A., & Lassemi, E. (2012). Effect of plasma rich in growth factors on alveolar osteitis. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 3(1), 38. <http://doi.org/10.4103/0975-5950.102150>
- Mozzati, M., Gallesio, G., Arata, V., Pol, R., & Scoletta, M. (2012). Platelet-rich therapies in the treatment of intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A report of 32 cases. *Oral Oncology*, 48(5), 469–474. <http://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.12.004>
- Mozzati, M., Gallesio, G., Di Romana, S., Bergamasco, L., & Pol, R. (2014). Efficacy of plasma-rich growth factor in the healing of postextraction sockets in patients affected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 72(3), 456–462. <http://doi.org/10.1016/j.joms.2013.10.010>
- Mozzati, M., Martinasso, G., Pol, R., Polastri, C., Cristiano, A., Muzio, G., & Canuto, R. (2010). The impact of plasma rich in growth factors on clinical and biological factors involved in healing processes after third molar extraction. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 95, 741–746. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.32882>
- Nazaroglou, I., Stavrianos, C., Kafas, P., Matoulas, E., Upile, T., Barlas, I., & Jerjes, W. (2009). Radiographic evaluation of bone regeneration after the application of plasma rich in growth factors in a lower third molar socket: a case report. *Cases Journal*, 2, 9134. <http://doi.org/10.1186/1757-1626-2-9134>
- Nicklas, D., & Saiz, L. (2014). In silico identification of potential therapeutic targets in the TGF- β signal transduction pathway. *Molecular bioSystems*, 24–26. <http://doi.org/10.1039/c3mb70259f>
- Overbey, D. M., Jones, E. L., & Robinson, T. N. (2014). How Hemostatic Agents Interact With the Coagulation Cascade. *AORN Journal*, 100(2), 148–159.

- <http://doi.org/10.1016/j.aorn.2013.12.012>
- Park, D. J., Thomas, N. J., Yoon, C., & Yoon, S. S. (2015). Vascular Endothelial Growth Factor A Inhibition in Gastric Cancer. *Gastric Cancer*, 18(1), 33–42. <http://doi.org/10.1007/s10120-014-0397-4>
- Porsch, H., Mehić, M., Olofsson, B., Heldin, P., & Heldin, C. H. (2014). Platelet-derived growth factor β -receptor, transforming growth factor β type I receptor, and CD44 protein modulate each other's signaling and stability. *Journal of Biological Chemistry*, 289(28), 19747–19757. <http://doi.org/10.1074/jbc.M114.547273>
- Reed, M. D., & Van Nostran, W. (2014). Assessing pain intensity with the visual analog scale: a plea for uniformity. *Journal of Clinical Pharmacology*, 54(3), 241–4. <http://doi.org/10.1002/jcph.250>
- Reed, S., & Wu, B. (2014). Sustained growth factor delivery in tissue engineering applications. *Annals of Biomedical Engineering*, 42(7), 1528–1536. <http://doi.org/10.1007/s10439-013-0956-6>
- Risitano, A., Beaulieu, L. M., Vitseva, O., & Freedman, J. E. (2012). Platelets and platelet-like particles mediate intercellular RNA transfer. *Blood*, 119(26), 6288–6295. <http://doi.org/10.1182/blood-2011-12-396440>
- Rutkowski, J. L., Johnson, D. a, Radio, N. M., & Fennell, J. W. (2010). Platelet rich plasma to facilitate wound healing following tooth extraction. *The Journal of Oral Implantology*, 36, 11–23. <http://doi.org/10.1563/AAID-JOI-09-00063>
- Shen, X., Xi, G., Wai, C., & Clemmons, D. R. (2015). The Coordinate Cellular Response to Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) and Insulin-like Growth Factor-binding Protein-2 (IGFBP-2) Is Regulated through Vimentin Binding to Receptor Tyrosine Phosphatase β (RPTP β). *Journal of Biological Chemistry*, 290(18), 11578–11590. <http://doi.org/10.1074/jbc.M114.620237>
- Smith, S. a., Travers, R. J., & Morrissey, J. H. (2015). How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 50(4), 326–336. <http://doi.org/10.3109/10409238.2015.1050550>
- Sundman, E. a., Cole, B. J., & Fortier, L. a. (2011). Growth Factor and Catabolic Cytokine Concentrations Are Influenced by the Cellular Composition of Platelet-Rich Plasma. *The American Journal of Sports Medicine*, 39(10), 2135–2140.

<http://doi.org/10.1177/0363546511417792>

- Taschieri, S., Corbella, S., Tsesis, I., & Del Fabbro, M. (2014). Impact of the use of plasma rich in growth factors (PRGF) on the quality of life of patients treated with endodontic surgery when a perforation of sinus membrane occurred: A comparative study. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 18, 43–52. <http://doi.org/10.1007/s10006-012-0386-x>
- Teven, C. M., Farina, E. M., Rivas, J., & Reid, R. R. (2014). Fibroblast growth factor (FGF) signaling in development and skeletal diseases. *Genes & Diseases*, 1(2), 199–213. <http://doi.org/10.1016/j.gendis.2014.09.005>
- Tsai, S.-M., Liu, D.-W., & Wang, W.-P. (2012). Fibroblast growth factor (Fgf) signaling pathway regulates liver homeostasis in zebrafish. *Transgenic Research*, 301–314. <http://doi.org/10.1007/s11248-012-9636-9>
- Wang, Y., Reheman, a, Spring, C. M., Kalantari, J., Marshall, a H., Wolberg, a S., ... Ni, H. (2014). Plasma fibronectin supports hemostasis and regulates thrombosis. *Journal of Clinical Investigation*, 124(10), 4281–4293. <http://doi.org/10.1172/jci74630>
- Wee, P., Shi, H., Jiang, J., Wang, Y., & Wang, Z. (2015). EGF stimulates the activation of EGF receptors and the selective activation of major signaling pathways during mitosis. *Cellular Signalling*, 27(3), 638–651. <http://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.11.030>
- Yamskova, V. P., Krasnov, M. S., & Yamskov, I. A. (2010). On Mechanisms Underlying Rgeneration and Reparation Processes in Tissues, (1), 140–143.
- Yuksel, E. P., Sahin, G., Aydin, F., Senturk, N., & Turanli, A. Y. (2014). Evaluation of effects of platelet-rich plasma on human facial skin, (October 2013), 206–208. <http://doi.org/10.3109/14764172.2014.949274>
- Zhou, Y., Zhang, J., Wu, H., Hogan, M. V., & Wang, J. H.-C. (2015). The differential effects of leukocyte-containing and pure platelet-rich plasma (PRP) on tendon stem/progenitor cells - implications of PRP application for the clinical treatment of tendon injuries. *Stem Cell Research & Therapy*, 6(1), 173. <http://doi.org/10.1186/s13287-015-0172-4>

VII. Anexos

Anexo I

Adendo 2
ATA 1/2015

29

Ex.ma Senhora
**Bárbara Duarte Silva Lafaia de
Castro**

Monte de Caparica, 02 de fevereiro de 2015

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "*Avaliação da Eficácia do Plasma Rico em Factores de Crescimento na Regeneração dos Tecidos Pós-Extração em Terceiros Molares Inclusos*", foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Prof^a. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

c.c. – Prof. Doutor José Silva Marques

Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

Anexo II

Monte de Caparica, ____ (dia), ____ (mês), ____ (ano)

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do 5º ano do **Mestrado Integrado em Medicina Dentária (MIMD)** na Unidade Curricular de “**Orientação Tutorial de Projecto Final**” do Instituto Superior de Ciências de Saúde Egas Moniz (ISCSEM), sob a orientação do **Professor Doutor José Silva Marques**, solicita-se autorização para a participação no estudo “**Avaliação da Eficácia do Plasma Rico em Factores de Crescimento na Regeneração dos Tecidos Pós Extração em Terceiros Molares Inclusos**”

O estudo irá decorrer nas instalações da CES Egas Moniz, na Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM) e tem como objectivo:

1. Avaliar a eficácia da regeneração tecidual proporcionada pela técnica do plasma rico em factores de crescimento (PRGF) nos tecidos pós extração de terceiros molares inclusos, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida do paciente.

Fui informado de que sou livre de aceitar ou recusar:

1. A minha participação de resposta à elaboração de uma História Clínica, para o estudo;
2. A minha participação para que me observem e recolham informações clínicas na minha cavidade oral;
3. A minha participação na colheita de sangue para o estudo;

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

A fim de esclarecer a minha decisão recebi, e bem compreendi, as informações seguintes:

1. Todos os dados recolhidos antes durante e após o estudo serão mantidos confidenciais, sendo utilizados somente os que se manifestem essenciais ao estudo em causa; será mantido o meu anonimato, perante os investigadores principais do projecto;
2. O estudo tem como objectivo contribuir de forma directa e indirecta para a formação do aluno em causa, sendo parte integrante do seu trabalho final de curso, no Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz;
3. Não serão efectuados procedimentos clínicos invasivos ou outros, bastando para isso a recolha de dados através de: a) aplicação de ficha de História Clínica; b) a recolha de 10ml de sangue;

Poderei em qualquer momento pedir informação complementar ao investigador e se o desejar, parar a minha participação sem suportar nenhuma responsabilidade

4. Os resultados dos dados recolhidos serão utilizados com a finalidade de pesquisa médico-dentária e serão tratados e apresentados de forma totalmente anónima;
5. Conservo todos os meus direitos garantidos na lei;
6. O meu consentimento não libera em nada os investigadores responsáveis deste trabalho das suas responsabilidades, no que diz respeito à investigação biológica e ética;

Deste modo permitirei:

1. Fornecer um certo numero de dados pessoais e clínicos, presentes num formulário preparado para esse fim;
2. Ser observado na cavidade oral;
3. Facultar a colheita de sangue, para obtenção de um coágulo rico em factores de crescimento com capacidade regeneradora de tecidos.

Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

Este estudo pode trazer benefícios tais como:

Determinar a eficácia desta técnica na diminuição de complicações e sintomas pós operatórios, em extrações de terceiros molares inclusos, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida do paciente.

Pensamos assim poder contribuir para o estudo do interesse científico e social. A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo orientado. O Orientado está obrigado ao anonimato e confidencialidade dos sujeitos.

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)

Anexo III

Monte de Caparica, ____ (dia), ____ (mês), ____ (ano)

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do 5º ano do **Mestrado Integrado em Medicina Dentária (MIMD)** na Unidade Curricular de “**Orientação Tutorial de Projecto Final**” do Instituto Superior de Ciências de Saúde Egas Moniz (ISCSEM), sob a orientação da **Professor Doutor José Silva Marques**, solicita-se o preenchimento da seguinte recolha de dados para o estudo “**Avaliação da Eficácia do Plasma Rico em Factores de Crescimento na Regeneração dos Tecidos Pós Extração em Terceiros Molares Inclusos**” e a sua devolução na consulta seguinte.

O estudo irá decorrer nas instalações da CES Egas Moniz, na Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM) e tem como objectivo:

Avaliar a eficácia da regeneração tecidual proporcionada pela técnica do plasma rico em factores de crescimento (PRGF) nos tecidos pós extração de terceiros molares inclusos, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida do paciente.

Nome:

Idade:

Hábitos tabágicos:

Frequência: _____

Sim

Não

Consumo de álcool:

Frequência: _____

Sim

Não

Consumo de estupefacientes:

Frequência: _____

Sim

Não

É portador de doenças:

Quais: _____

Sim

Não

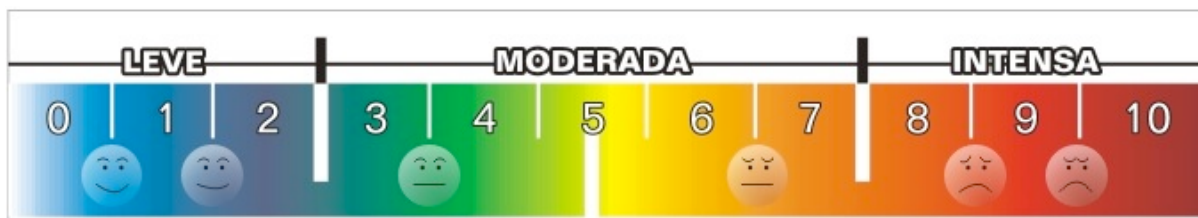
Faz medicação:

Qual: _____

Sim

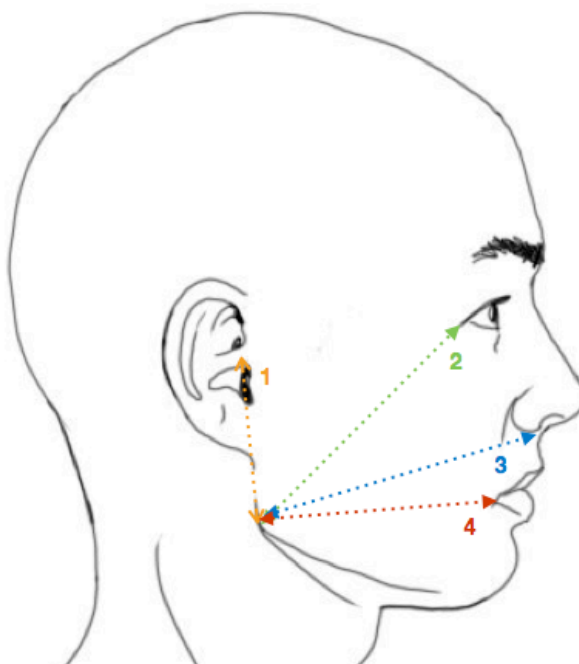
Não

Tendo como referência a seguinte escala, sendo 0 ausência de dor e 10 pior dor possível, refira na seguinte tabela qual o valor de dor que sente no presente dia após a sua extração:



1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	6º dia	7º dia

Utilizando a régua flexível e com base na seguinte imagem registre na seguinte tabela as medidas faciais dos seguintes 4 pontos, conforme a explicação que lhe foi indicada na consulta:



	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	6º dia
Medida 1					
Medida 2					
Medida 3					
Medida 4					